

**HAROLDO TAVARES ELIAS**

**CARACTERIZAÇÃO DA VARIABILIDADE GENÉTICA EM GERMOPLASMA  
TRADICIONAL de *Phaseolus vulgaris* L. COLETADO EM SANTA  
CATARINA**

**MARINGÁ  
PARANÁ – BRASIL  
FEVEREIRO - 2006**

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

**HAROLDO TAVARES ELIAS**

**CARACTERIZAÇÃO DA VARIABILIDADE GENÉTICA EM GERMOPLASMA  
TRADICIONAL de *Phaseolus vulgaris* L. COLETADO EM SANTA  
CATARINA**

Tese apresentada à Universidade Estadual de Maringá, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração Melhoramento Genético Vegetal, para obtenção do título de Doutor.

**MARINGÁ  
PARANÁ – BRASIL  
FEVEREIRO - 2006**

**Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)**  
**(Biblioteca Central – UEM, Maringá – PR., Brasil)**

Elias, Haroldo Tavares.

Caracterização da Variabilidade Genética em Germoplasma Tradicional de *Phaseolus vulgaris* L. coletado em Santa Catarina/ Haroldo Tavares Elias. -- Maringá : [s.n.], 2006.

154f. : il. Color., tabs.

Orientador : Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Maria Celeste Gonçalves-Vidigal.

Tese ( Doutorado ) - Universidade Estadual de Maringá. Departamento de Agronomia, 2006.

1. *Phaseolus vulgaris* L. 2. Divergência genética. 3. cultivares tradicionais. 4. marcadores moleculares – Santa Catarina. I. Universidade Estadual de Maringá. Departamento de Agronomia.

CCD. . Ed.

À minha esposa Maria Inês e aos meus filhos Lílian e Guilherme, pela compreensão, amor, companheirismo e carinho dedicados;

Aos meus pais, Haroldo e em especial a minha mãe Maria Luiza, que há pouco tempo partiu, deixando saudades pelo exemplo e pela luta incansável na educação de todos nós;

Aos meus irmãos Fabio, Gerson, Edmilson e Luciene, dos quais tenho orgulho, devido ao apoio, incentivo e amizade;

com alegria e carinho dedico este trabalho.

## AGRADECIMENTOS

Com emoção, deixo aqui consignados meus agradecimentos a todos os que de alguma maneira me apoiaram ao longo desta caminhada.

A Deus, por me conceder estar entre aqueles que tiveram essa oportunidade;

À Universidade Estadual de Maringá, pela oportunidade concedida.

À Professora Maria Celeste Gonçalves-Vidigal, pela orientação, ensinamentos, dedicação e amizade;

Ao Professor Pedro Soares Vidigal Filho, pela co-orientação e amizade;

Ao Professor Carlos Alberto Bastos Andrade, pela co-orientação e valiosas sugestões;

À Dra. Adriana, à acadêmica Giselly e ao funcionário Alexandre que tornaram possível a realização da segunda parte deste trabalho, no Laboratório de Biotecnologia;

Ao Programa de Melhoramento Genético de feijão da Epagri-CEPAF, pela colaboração, apoio na instalação dos experimentos de campo, bem como aos colegas Waldir, Silmar, Gilcimar, Vieira, ao Conselho Técnico do CEPAF, Colegas Milanês, Testa e Flávio, que entenderam e me apoiaram, quando da minha ausência na Empresa;

Aos colegas do curso de pós-graduação em Agronomia, Lucas, Marcus, Vanessa, Cláudio e Frederico pela agradável convivência;

E, enfim, aos agricultores familiares de Santa Catarina que, de alguma forma, inspiraram o tema desta tese e aos quais devo retorno, na forma de tecnologias mais apropriadas.

## **BIOGRAFIA**

Haroldo Tavares Elias, filho de Haroldo Milleo Elias e Maria Luiza Tavares Elias, nasceu em 19 de março de 1963, em Joinville, Estado de Santa Catarina.

Em janeiro de 1986, diplomou-se em Agronomia pela Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC).

Em junho de 1986, iniciou suas atividades profissionais na EMATER/ACARESC, atuando como extensionista o Sul de Santa Catarina, executor do Projeto Microbacias – Bird no município de Turvo de 1990-1994

Em março de 1995, iniciou o curso de mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas, no Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras – MG, concluindo em julho de 1997.

Iniciou os trabalhos em Pesquisa Agropecuária em agosto de 1997 no CEFAP - Centro de Pesquisa para Agricultura Familiar, Unidade de Pesquisa da EPAC de Chapecó-SC.

Em março de 2002, ingressou no programa de Pós-Graduação em Agronomia na Universidade Estadual de Maringá – UEM.

## ÍNDICE

RESUMO .....	x
ABSTRACT .....	xii
1. INTRODUÇÃO .....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA .....	4
2.1. Panorama mundial e nacional do feijão .....	4
2.2. O feijão na agricultura familiar .....	5
2.4. Correlação entre caracteres morfo-agronômicos e nutricionais em feijão .....	11
2.5. Recursos genéticos e banco de germoplasma .....	14
2.6. Marcadores moleculares RAPD .....	19
2.7. Aplicações dos marcadores moleculares no melhoramento de plantas .....	21
2.8. Divergência genética .....	25
2.9. Técnicas multivariadas .....	31
2.10. Componentes principais .....	32
2.11. Análise de agrupamento .....	34
2.12. Identificação de genes de resistência a doenças em feijão através de marcadores moleculares .....	38
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	41
CAPÍTULO 1: DIVERGÊNCIA GENÉTICA ENTRE CULTIVARES DE FEIJÃO TRADICIONAL ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.) POR MEIO DE CARACTERES MORFO-AGRONÔMICOS E NUTRICIONAIS .....	56
RESUMO .....	56
ABSTRACT .....	58
1. INTRODUÇÃO .....	59
2.1. Material genético utilizado .....	61
2.2. Local e época de semeadura .....	62

2.3. Solo e clima .....	63
2.4. Implantação e Manejo dos experimentos .....	64
2.5. Características a serem avaliadas.....	64
2.6. Análise Genético-Estatística das características morfo- agronômicas e nutricionais de cultivares tradicional de feijoeiro .....	66
2.6.1. Delineamento experimental .....	66
2.6.2. Análise estatística .....	66
2.6.3. Estimadores de correlações simples.....	68
2.6.4. Análise Multivariada .....	69
2.6.4.1. Distância generalizada de Mahalanobis .....	69
2.6.4.2. Análise de agrupamento.....	70
2.6.4.3. Método de Otimização de Tocher.....	70
2.6.4.4. Método UPGMA .....	70
2.6.4.5. Componentes principais .....	71
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	73
3.1. Análise da Variância .....	73
3.2. Análise de Correlações.....	81
3.3. Análise multivariada.....	85
3.3.1. Distância generalizada de Mahalanobis ( $D^2$ ) .....	85
3.3.2. Análise de agrupamento .....	87
3.3.2.1. Método de Otimização de Tocher.....	87
3.3.2.2. Método de agrupamento UPGMA .....	90
3.3.3. Componentes Principais e Importância Relativa dos Caracteres .....	92
4. CONCLUSÕES .....	98
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	99
CAPÍTULO 2: DIVERGÊNCIA GENÉTICA EM CULTIVARES DE FEIJÃO ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.) COLETADOS NO ESTADO DE SANTA CATARINA, USANDO MARCADORES MOLECULARES RAPD .....	105
RESUMO .....	105
1. INTRODUÇÃO .....	107
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	109

2.1. Material Genético .....	109
2.2. Obtenção dos Marcadores RAPD .....	109
2.2.1. Extração de DNA genômico .....	109
2.3. Análise estatística dos marcadores RAPD .....	111
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	114
3.1. Reações RAPD .....	114
3.2. Avaliação da divergência genética .....	115
3.3. Identificação de cultivares com genes para resistência a Antracnose, Mancha angular e Bacteriose via Marcadores RAPD .....	119
3.3. Associação entre marcadores moleculares RAPD e marcadores morfo-agronômicos .....	122
4. CONCLUSÕES .....	124
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	125

## RESUMO

ELIAS, Haroldo Tavares, D.S., Universidade Estadual de Maringá, fevereiro de 2006. **Caracterização da Variabilidade Genética em Germoplasma Tradicional de *Phaseolus vulgaris* L. Coletado em Santa Catarina.** Professora Orientadora: Maria Celeste Gonçalves-Vidigal. Professores Conselheiros: Pedro Soares Vidigal Filho, Marcio Ender e Carlos Alberto Bastos de Andrade.

A existência de variabilidade genética em programas de melhoramento do feijão como em qualquer outra espécie, é essencial para que haja populações segregantes, em vários caracteres, ampliando assim as possibilidades de seleção de cultivares superiores. O presente estudo teve como objetivo avaliar a divergência genética em 45 cultivares tradicionais de feijão, coletados no Estado de Santa Catarina, utilizando-se 11 caracteres morfo-agronômicos, nutricionais e marcadores moleculares RAPD. O experimento foi conduzido no Centro de Pesquisa da EPAGRI, em Chapecó, Santa Catarina. O delineamento experimental utilizado foi o de blocos ao acaso, com três repetições. As características estudadas foram: número de dias para a maturação, produtividade de grãos, massa de 500 grãos, resistência à bacteriose, resistência à antracnose, comprimento longitudinal do folíolo, altura de planta, número médio de vagens por planta, número médio de sementes por planta, primer de proteína e primer de fibra bruta. Os dados obtidos em cada variável foram submetidos à análise de variância considerando-se o efeito da cultivar como fixo. A análise multivariada foi usada para avaliar a divergência genética entre as cultivares, utilizando-se análises por componentes principais e técnicas de agrupamentos por meio do método de Tocher, e UPGMA, com base na Distância Generalizada de Mahalanobis ( $D_{ii'}^2$ ). Pelo método de Tocher houve a formação de nove grupos. A análise de variância revelou diferença significativa em nível de 1% de probabilidade para quase todas as características avaliadas. A maior divergência foi observada entre as cultivares do Grupo VII, em especial a cultivar CFE 22, que se apresentou mais divergente em relação aos demais. Portanto, para compor programas de hibridação entre este grupo de materiais, sugerem-se

cruzamentos entre as cultivares do Grupo II, em especial CFE 25, CFE 100 e FT Nobre e aqueles do Grupo VII, destacando-se o acesso CFE 22. A cultivar Diamante Negro pode ser utilizada em cruzamentos com as cultivares do Grupo II e VII que se destacaram, por serem as mais divergentes e possuírem uma das melhores médias em produtividade. A divergência genética estimada por marcadores moleculares RAPD, utilizando-se seis primers, propiciou a obtenção de 43 locos RAPD, sendo 65,11% deles polimórficos. As cultivares foram agrupadas a partir da distância genética do complemento aritmético do índice de Jaccard, utilizando-se métodos UPGMA, e Tocher. Os resultados das análises de agrupamento com base em marcadores RAPD alocaram as cultivares testemunhas (melhoradas) em grupos distintos daqueles em que se agruparam as cultivares tradicionais. As cultivares FT Nobre, Diamante Negro, EMPASC 201 e CFE 113 foram as mais divergentes em relação aos demais. Os resultados obtidos, utilizando-se marcadores moleculares, RAPD foram parcialmente similares aos obtidos pelo estudo de características morfoagronômicas, sendo ambos eficientes em alocar em diferentes grupos as cultivares melhoradas e as tradicionais. A variabilidade genética observada entre as cultivares pode ser explorada em programas de melhoramento para obtenção de novas cultivares com grão de tegumento preto.

**Palavras chave:** Feijão, cultivares tradicionais, variabilidade genética, divergência genética.

## ABSTRACT

ELIAS, Haroldo Tavares Elias, D.S., Universidade Estadual de Maringá, february, 2006. **Genetic Diversity of Germoplasm in Traditional Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Coleted in Santa Catarina State.** Adviser: Maria Celeste Gonçalves Vidigal. Committee Members: Pedro Soares Vidigal Filho, Marcio Ender and Carlos Alberto Bastos Andrade.

The existence of genetic variability in bean hybridization programs of bean as any other species is essential in order to have segregant populations, in several characters, amplifying the possibilities of selection of superior genotypes. The present study had as objective to evaluate of the genetic divergence in 45 traditional cultivars of bean collected in Santa Catarina State, utilizing 11 morphoagronomic and nutritional characters and RAPD molecular markers. The experiment was carried out at Epagri's - Centro de Pesquisa, in Chapecó, Santa Catarina State. The experimental design randomized blocks, with three replicates. The following characteristics were evaluated: number of days for maturation, productivity, mass of 500 seeds, bacteriose's resistance, resistance to anthracnose, foliole longitudinal length, plant height, mean number of pods per plant, mean number of seeds per plant, protein percentage and brute fiber percentage. The data obtained for each characteristic were submitted to variance analysis considering the fixed effect of the cultivar. The multivariate analysis was used to evaluate the genetic divergence among the genotypes utilizing analyses by principal components and clustering techniques through Tocher's method and UPGMA, based on Mahalanobis ( $D_{ii}^2$ ) Generalized Distance . The variance analysis revealed significant difference of 1% probability for almost all evaluated characteristics. This fact indicates that these genotypes, even though belonging to the same commercial groups, presented variability in relation to several characters of interested. The highest divergence was observed among cultivars of Group VII, especially genotype 5, which presented itself as the most divergent in relation to the others. Therefore, in order to compose hybridization programs among this group of materials, it is suggested crossings among genotypes of Group II, especially CFE 25, CFE 100 and FT Nobre, and those of Group VII, pointing out the CFE 22 access.

The cultivar Diamante Negro could be used in crossings with the cultivars from Group II and VII that pointed out, since they were the most divergent and possess one of the best productivity mean. The genetic divergence estimated by RAPD molecular markers, using six primers, provided 43 RAPD loci, being 65.11% of them polymorphic. The genotypes were clustered from arithmetic complement of Jaccard index, using UPGMA methods, Tocher and graphic dispersion. The results of clustering analyses based on RAPD markers allocated the better cultivars in distinguished groups from the ones where the traditional cultivars were. The cultivars FT Nobre, Diamante Negro, Empasc 201 and CFE 113 were the most divergent in relation to the others. The results obtained using RAPD molecular markers were partially similar to the ones observed through the studying of morphoagronomic characteristics, being both efficient to allocate in different groups the better and traditional cultivars. The genetic variability among cultivars could be explored in breeding programs to obtain new cultivars with grain of black type.

**Key words:** common bean, traditional cultivar, genetic variability, genetic divergence.

## 1. INTRODUÇÃO

Os grãos de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) constituem-se no alimento proveniente de leguminosas mais difundido do mundo, por ser uma importante fonte de proteínas e calorias para mais de 500 milhões de pessoas que habitam a América Latina e África (FAO, 2005),

O cultivo de feijão no Brasil predomina em pequenas propriedades e, por este fato, apresenta destaque na absorção de mão-de-obra agrícola, especialmente a mão-de-obra familiar. Estima-se que no Brasil esta cultura utilize cerca de 40 milhões de homem dia<sup>-1</sup>, por ciclo de produção. No final do último século houve uma expressiva migração das populações rurais mais pobres para as áreas urbanas das cidades, as quais já concentram mais de 70% da população da América Latina. Frente às tendências atuais de crescimento da população e do consumo de feijão, pode ser esperado um aumento da demanda, para a América Latina e África, a níveis sem precedentes. Este aumento pela demanda será suprido somente se forem desenvolvidas novas cultivares de feijão que apresentem rendimentos mais elevados, resistência múltipla a doenças e uma maior tolerância à seca e à baixa fertilidade dos solos (CIAT, 2002).

No Brasil, o feijão foi introduzido pela América central. Com o passar dos anos, surgiram novas cultivares através dos diversos programas de melhoramento genético (RAMALHO et al., 2004a). Com o processo de domesticação e a conseqüente diminuição da variabilidade genética, as cultivares provenientes de programas de melhoramento de feijão, atualmente semeadas no Brasil, apresentam base genética estreita (VIEIRA et al., 1998).

A busca constante por uma maior produtividade e uma melhor qualidade dos produtos vegetais, resultado da seleção natural e do homem (ENDER et al., 1998), bem como a ocorrência de estiagens prolongadas, com relativa freqüência (VICTORIA e TEIXEIRA, 1998), tem colocado em constante perigo os recursos genéticos cultivados, resultando na eliminação da variabilidade genética acumulada ao longo dos anos.

Os programas de melhoramento estão fundamentados na utilização da diversidade genética para a criação e a seleção de novas cultivares com alto potencial produtivo. No entanto, de todas as espécies vegetais até hoje

existentes, cerca de 99,9% já foram extintas. O valor de 0,1 % corresponde às 300.000 espécies descritas atualmente. Destas 300.000 espécies, o homem utilizou cerca de 3.000. Hoje, porém, emprega não mais do que 300, dos quais somente 15 constituem 90% de sua dieta média (PATERNIANI, 1988).

Para contrabalançar esta perda de material genético, é de vital importância conservá-los para benefício das gerações presentes e futuras. O aproveitamento dos recursos genético local e regional contribui para tornar os agroecossistemas mais equilibrados, pois tais cultivares encontram-se adaptados às condições edafoclimáticas da região em uso.

Diante destes fatos, o estudo de características morfológicas, agronômicas e nutricionais do feijão (*Phaseolus vulgaris* L.), em especial do grupo preto, torna-se muito importante em função de que em determinadas regiões do Brasil, como no Rio Grande do Sul, Santa Catarina, região sul e leste do Paraná, Rio de Janeiro e sudeste de Minas Gerais, este tipo de grão comercial apresenta uma preferência de consumo (CARNEIRO et al., 2005).

Existem duas maneiras de se interferir na diversidade genética, sendo a primeira de natureza quantitativa e a segunda de natureza preditiva. Entre aquela de natureza quantitativa citam-se as análises dialélicas, nas quais são necessários os cruzamentos entre os progenitores e sua posterior avaliação. As de natureza preditiva, que têm por base as diferenças morfológicas, de qualidade nutricional, fisiológicas ou moleculares, quantificadas em alguma medida de dissimilaridade que irá expressar o grau de diversidade genética entre os genitores (CRUZ e CARNEIRO, 2003).

Uma das técnicas de natureza preditiva, mais recentemente utilizada, consiste no uso de marcadores moleculares, que detectam a variação na seqüência de DNA – polimorfismos, permitindo a análise da similaridade genética existente entre os genitores (VASCONCELOS et al., 1996).

A utilização dos marcadores moleculares tem propiciado a simplificação na pré-seleção dos genitores, podendo-se fazê-la diretamente na avaliação de seu DNA. Técnicas como marcadores RAPD (Polimorfismo de DNA Amplificado ao Acaso) permitem estes avanços nos programas de melhoramento (FERREIRA e GRATTAPAGLIA, 1995).

Sendo assim, os objetivos deste trabalho foram: 1) caracterizar a divergência e potencial genético em 45 cultivares tradicionais de feijão do

grupo comercial preto por meio de técnicas multivariadas, baseadas em caracteres morfo-agronômicos, nutricionais e por meio de marcadores moleculares; 2) identificar cultivares com presença de genes que conferem resistência à mancha angular, antracnose e bacteriose por meio de marcadores moleculares RAPD.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. Panorama mundial e nacional do feijão

O feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) é o alimento proveniente de leguminosa, mais difundido do mundo, pois constitui numa importante fonte de proteínas e calorias para mais de 500 milhões de pessoas que habitam a América Latina e África. Participa largamente do hábito alimentar da população, seja urbana quanto rural, e consiste não somente a base protéica, mas também a base energética na alimentação. Nas classes mais humildes, desempenha, muitas vezes, o papel da principal fonte de proteínas.

A produção mundial de feijão alcançou 19 milhões de toneladas em 27 milhões de hectares cultivados na safra 2004, sendo que os maiores produtores mundiais são Brasil, Índia e China, com 16,4 %, 15,5 e 11,2 % da participação do total da produção, respectivamente (FAO, 2005).

No Brasil, a estimativa é de que 3,13 milhões de toneladas tenham sido colhidos em 4,05 milhões de hectares na safra 2004/2005. Os maiores produtores em nível nacional são Paraná, Bahia e Minas Gerais, sendo estes três Estados responsáveis por mais de 40% da produção brasileira (IBGE, 2005).

Toda a produção do Brasil é historicamente consumida internamente (VIEIRA, 1978). O brasileiro é regionalmente exigente quanto à cor do tegumento e ao tipo de grão, além da qualidade culinária, consumido anualmente 17% de tipo de grão preto, 79% de grão tipo carioca e 4% de outros tipos de grãos.

O Estado de Santa Catarina situa-se entre os sete maiores produtores de feijão do Brasil, respondendo aproximadamente por 6% da produção nacional. Neste Estado vem ocorrendo uma diminuição na área cultivada nos últimos anos, decorrente de alguns fatores, dentre os mais relevantes: a falta de mão-de-obra, a baixa remuneração do produto e as condições climáticas desfavoráveis ao cultivo, como estiagens, e a ausência de cultivares que respondam à necessidade dos produtores. Em relação ao rendimento de grãos, Santa Catarina tem uma posição de destaque, uma vez que o rendimento

médio no Estado alcançou 1.285 Kg ha<sup>-1</sup> na safra de 2003, bem superior à média brasileira que é de 773 Kg ha<sup>-1</sup>.

Entre as culturas de grãos, o feijoeiro é a que exhibe o mais alto nível de variabilidade quanto à cor, tamanho e forma de semente, sendo que estas características influenciam as pessoas quanto à preferência por determinada cultivar. Segundo Carneiro (2005), o feijão Preto é mais popular no Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Sul e Leste do Paraná, Rio de Janeiro e Sudeste de Minas Gerais. No restante do país, entretanto, este tipo de feijão tem pouca aceitação comercial, fato que restringe a variabilidade genética das cultivares lançadas pelos programas de melhoramento.

A produção nacional de feijões dos grupos preto e branco não atende à demanda interna, e com isto, o Brasil tem comprometido anualmente mais de 65 milhões de dólares com importação de feijão. O mercado interno de feijão *Phaseolus* movimenta um bilhão de dólares por ano (THUNG et al., 2005).

## **2.2. O feijão na agricultura familiar**

No Brasil, tanto em nível nacional quanto nos Estados, o feijão destaca-se pela importância econômica e social. O feijão constitui hoje uma opção importante para a pequena propriedade típica de Santa Catarina e manterá sua importância no futuro, estimando-se que em torno de 60.000 produtores estejam envolvidos diretamente com esta cultura (TESTA e NADAL, 1995). Este número de produtores ressalta sua importância social, principalmente relacionada à condição de subsistência, já que constitui alimento básico, tanto para a população rural como urbana e, em especial, aqueles com menor poder aquisitivo. Basta salientar que o feijão apresenta um consumo per capita significativo, em torno de 15 kg/hab/ano (CHIARARDIA e GOMES, 1997).

O cultivo do feijão apresenta destaque na absorção de mão-de-obra agrícola, especialmente a familiar. Estima-se que esta cultura utilize cerca de 40 milhões de homem dia<sup>-1</sup>, por ciclo de produção no Brasil. No final do último século, houve migração das populações rurais mais pobres para as cidades, as quais já concentram mais de 70% da população da América Latina. Frente às tendências atuais de crescimento da população e do consumo de feijão, pode

ser esperado um aumento da demanda por parte da América Latina e África, em níveis sem precedentes. Este aumento pela demanda será suprido somente se forem desenvolvidos novas cultivares de feijão com rendimentos mais elevados, resistência múltipla a doenças e com maior tolerância à seca e à baixa fertilidade, pois isso permitirá aumentar a produtividade de feijão, alcançando-se assim maior estabilidade de rendimento (CIAT, 2002).

Na década de setenta, o rendimento médio da cultura do feijão no Brasil era de 650 Kg ha<sup>-1</sup> (VIEIRA, 1978), enquanto que em 2004 alcançou 773 Kg.ha<sup>-1</sup>, (ICEPA, 2004), com isto, verifica-se que não houve uma evolução considerável nestes 30 anos, comparativamente a outras culturas. Basta salientar que em experimentos são freqüentes os rendimentos superiores a 2.000 Kg.ha<sup>-1</sup>, bem como em regiões onde se utiliza tecnologia adequada. Os principais fatores responsáveis pela baixa produtividade no Brasil, segundo Schwartz e Pastor-Corrales (1989), são o ataque de doenças, insetos, deficiências nutricionais e estiagens.

Para solucionar estes problemas na cultura de feijão, há a necessidade de contar com uma ampla fonte de germoplasma. Uma diversificada fonte de recursos fitogenéticos tem sido a base da subsistência de muitos agricultores familiares e comunidades rurais. Entretanto, pelo uso inadequado destes recursos e pela contínua substituição das cultivares nativas pelas híbridas e linhagens, muitas estão sendo perdidas, fenômeno denominado erosão genética. Uma forma de erosão genética se dá pela substituição de um grande número de cultivares “crioulas”, com ampla variabilidade genética, mistura de linhas puras por poucas cultivares, melhoradas e uniformes, com base genética mais estreita (WINKLER,1986).

Com isto, considera-se de suma importância o conhecimento do germoplasma local, de forma a utilizá-lo em programas de melhoramento, mas sobretudo conservá-lo para disponibiliza-lo aos agricultores, de forma a manter a variabilidade e base genética dos cultivos.

### 2.3. Características morfológicas, agronômicas e nutricionais do feijão

O feijão (*Phaseolus vulgaris*, L.) é uma leguminosa anual, domesticada a mais de 7.000 anos em dois centros de origem: Mesoamericano (México e América Central) e Andino. Mais de 60% do feijão comum produzido mundialmente é derivado de cultivares originárias da América Central. A compreensão da diversidade desta espécie facilitará o uso para fins de melhoramento genético.

Em relação à origem, acredita-se que o feijão, juntamente com o milho e a abóbora, surgiu como uma planta daninha em cultivos de mandioca e de batata doce na América Central. Durante milênios, os agricultores cultivaram misturas complexas de tipos de feijão. Este processo produziu uma variabilidade genética quase ilimitada, com uma grande variação de cores, textura e de tamanho de grão, vindo ao encontro das condições de plantio e das preferências de sabor de pessoas de diferentes regiões. Os diversos tipos de feijão são cultivados desde o nível do mar até mais de três mil metros de altitude, principalmente por pequenos agricultores em áreas com menos de um hectare, sem uso de irrigação ou utilização inadequada de fertilizantes ou de pesticidas (SCHOONHOVEN e VOYSEST, 1991).

O maior volume de feijões consumido no Brasil pertence à classe Dicotyledoneae, família Fabaceae (Leguminosae), gênero *Phaseolus* e espécie *Phaseolus vulgaris* L. (RIOS et al., 2003).

O feijão é uma leguminosa anual com número diplóide de cromossomos  $2n = 22$ , sendo considerada uma planta autógama, pois a fecundação cruzada é normalmente inferior a 5% (ROYER et al., 1999).

A planta do feijão é uma espécie considerada pouco tolerante à deficiência hídrica, devido ao seu sistema radicular superficial ser pouco desenvolvido (FANCELLI, 2001). O sistema radicular é constituído pela raiz principal e por ramificações laterais.

O feijão pode apresentar nódulos distribuídos nas raízes laterais. Estes nódulos, geralmente em forma poliédrica e de diâmetro de 2 a 5 mm, são colonizadoras por bactérias do gênero *Rhizobium*, as quais fixam o nitrogênio atmosférico. O número de nódulos que uma planta pode apresentar depende

da estirpe de *Rhizobium* e da constituição genética da planta hospedeira (VILHORDO et al., 1988).

Apresenta folhas simples e compostas. As folhas simples aparecem inseridas no segundo nó do caule e são denominadas folhas primárias ou primordiais, pois, geralmente caem antes do completo desenvolvimento da planta. Elas são opostas, com pecíolos glabros ou ligeiramente pubescentes e estão associadas com estípulas bífidas, que constituem um caráter importante na sistemática das leguminosas. As folhas compostas, que constituem as folhas típicas do feijão, são trifolioladas, tendo um folíolo central ou terminal e dois laterais e opostos. Sua disposição no caule é alternada e apresentam-se longos peciolados, com pulvínulo (relacionado com os movimentos nictinásticos das folhas) na base do pecíolo (OSPINA, 1982).

Existe variação quanto à cor das folhas, podendo ter ou não correlação com o caule e as ramas. Normalmente são verde-claras, verde-normais ou verde--escuras (VILHORDO et al., 1988), dependendo da cultivar, da posição na planta, da idade e também das condições ambientais (OSPINA, 1982). Há certa correlação entre o tamanho da folha madura e o tamanho das sementes, isto é, cultivares de grãos pequenos exibem plantas de folhas maduras pequenas. Segundo o CIAT (1978), na caracterização botânica, o tamanho das folhas (comprimento e largura), é verificado apenas no folíolo central, completamente desenvolvido.

Em relação ao hábito de crescimento da planta do feijão, este pode ser determinado ou indeterminado. Quando determinado, a planta tem o caule principal e as ramas laterais sempre terminando numa inflorescência. Quando indeterminado, o caule principal e as ramas laterais terminam em gemas vegetativas. Neste caso, as inflorescências aparecem nas axilas das folhas, à medida em que o caule se desenvolve, dando origem a uma guia. Como existe variação no padrão de desenvolvimento das plantas de hábito indeterminado, foi proposta a seguinte classificação para as plantas de feijão: Tipo I – determinado: Tipo II – indeterminado, com internódios curtos; Tipo III – indeterminado, com internódios longos e tendência volúvel: Tipo IV – indeterminado, com guias prostradas ou trepadoras (CIAT, 1978; BEEBE, 1989). Algumas vezes é difícil classificar uma cultivar com relação ao hábito de

crescimento indeterminado, porque esse caráter é muito influenciado pelo ambiente.

A inflorescência do feijão é um racimo e ocorre normalmente em cachos situados em posição axilar ou terminal. O androceu é formado por dez estames diadelfos, isto é, nove aderentes pelo filete e um livre, denominado de estame axilar. O gineceu é de ovário estreito e alongado, com os óvulos distribuídos em linha e possui o estilete terminado num estigma provido de pêlos, na margem inferior, que seguram os grãos de pólen na época da polinização. A deiscência das anteras ocorre antes da abertura da flor. Portanto, quando da sua abertura, ela já foi polinizada, sendo um mecanismo que induz a autogamia, denominado cleistogamia (RAMALHO e SANTOS, 1982).

O fruto do feijão é uma vagem, constituído de duas valvas que, unidas, apresentam duas suturas denominadas de dorsal ou ventral. A cor das vagens é característica marcante da cultivar (VILHORDO e MULLER, 1981). Podem ser de diversas cores, uniformes ou rajadas, existindo diferenças entre vagens maduras e secas (OSPINA, 1982). As vagens verdes, quando se aproximam da maturação, tornam-se amarelas, vermelhas, rosadas, violeta-escura ou amarelas com estrias violáceas ou vermelhas e possuem, em média, 2 a 6 sementes (OSPINA, 1980).

Em relação à semente do feijão, é exalbuminosa e origina-se de um óvulo campilótropo. Além de apresentar várias formas, tais como cilíndrica, esférica, reniforme e elíptica, as sementes variam em tamanho, brilho e cor (CIAT, 1978). De acordo com Singh (1989), o tamanho das sementes de feijão cultivado pode variar de menos de 15g a 90g por 100 sementes e são agrupadas em pequenas (< 25g), médias (25 a 40g) e grandes (> 40g por 100 sementes). A ampla variabilidade apresentada pelas características externas supracitadas, tem sido utilizada como parâmetro diferencial de cultivares.

O número de vagens por planta apresenta variação de acordo com o tipo de hábito de crescimento, sendo que as plantas de hábito de crescimento determinado (tipo I) são menores do que nos tipos II e III.

Sob o ponto de vista nutricional, o feijão apresenta componente e características que tornam seu consumo vantajoso. Entre eles, pode-se citar o conteúdo protéico relativamente alto, o teor elevado de lisina, que exerce efeito complementar às proteínas dos cereais, a fibra alimentar com seus

reconhecidos efeitos hipocolesterolêmicos e hipoglicêmico (BENNINK, 2005). Também apresenta alto conteúdo de carboidratos complexos e a presença de vitaminas do complexo B. Por outro lado, alguns problemas nutricionais, como a baixa digestibilidade protéica, o conteúdo reduzido em aminoácidos sulfurados, a presença de fatores antinutricionais e a baixa disponibilidade de minerais, são assuntos que têm merecido a atenção especial de vários grupos de pesquisas (IAREDOZA et al., 1989).

A percentagem de proteínas em feijão varia entre 16 e 33%, para diferentes tipos de feijões analisados (CHIARARDIA e GOMES, 1997). Portanto, como alimento básico e sob o ponto de vista quantitativo, o feijão é considerado um alimento protéico, embora seu conteúdo calórico, mineral e vitamínico não possa ser desprezado.

Nutricionistas caracterizam o feijão como um alimento quase perfeito devido ao alto conteúdo de proteínas e fibras, carboidratos complexos e outros complementos da dieta, como ácido fólico (fonte de vitaminas B), ferro, zinco, magnésio e potássio (CIAT, 2002).

A variação do teor de nitrogênio e, conseqüentemente, de proteínas totais ocorre não somente nas diferentes cultivares, mas também na mesma variedade avaliada em ambientes diferentes, mostrando, portanto, a influência do meio sobre a formação da semente. Avaliação do teor de proteína de 33 cultivares tradicionais foi realizada por Silva e Iachan (1975) que verificaram um valor médio de 21,9%. O controle genético do conteúdo protéico total é complexo. A variação da percentagem de proteínas não é apenas dependente da expressão genética que controla a síntese e o acúmulo de frações específicas de proteínas, mas também de genes que controlam outros fatores, tais como, absorção de nutrientes, vigor da planta, maturação, tamanho da semente, síntese e acúmulo de amido na semente (OSBORN, 1988).

A fibra alimentar é outra característica com importância crescente nos últimos anos, e pode ser definida como compostos endógenos de materiais de plantas da dieta que são resistentes à digestão por enzimas humanas. Os feijões secos contêm uma quantidade substancial de carboidratos como fibra na forma de celulose e hemicelulose, com quantidades variando de 3 a 7% em feijões cozidos (CHIARARDIA e GOMES, 1997).

Alguns estudos têm ressaltado os efeitos positivos dos feijões para a saúde humana. Os feijões secos são excelentes para aumentar o consumo dietético da fibra e apresentam várias vantagens para uma boa saúde, reduzindo o risco de doenças crônicas, tais como doenças cardíacas, diabetes, obesidade e doenças coronárias. Os feijões são densos em nutrientes, ricos em fibras e fontes de proteína de alta qualidade. Os efeitos protetores e terapêuticos do feijão foram documentados, sendo que, estudos mostram que o consumo de feijão tem o potencial de diminuir concentrações do colesterol, melhorar muitos aspectos do estado de diabéticos e fornecer os benefícios metabólicos que ajudam no controle do peso (ANDERSON et al., 1999; IADEROZA et al., 1989).

Existem poucos trabalhos na área de qualidades nutricionais em feijão. Londero et al. (2005) estudaram a variabilidade genética para teores de fibra e rendimento de grãos em 26 populações de feijão. Os caracteres fibra bruta e fibra solúvel não apresentaram efeitos significativos, indicando que não foi possível a identificação de variabilidade genética entre as populações. O valor de fibra bruta variou de 3,42% a 4,30%, enquanto que a fibra alimentar total variou de 33,39% a 39,39%.

#### **2.4. Correlação entre caracteres morfo-agronômicos e nutricionais em feijão**

A correlação é um parâmetro estatístico que mede o grau de associação entre duas características que estão correlacionadas, quando a variação em uma delas é acompanhada por variação simultânea na outra (RAMALHO et al., 2004b).

O estudo das correlações entre características possui relativa importância devido a três fatores. O primeiro fator está relacionado à ação pleiotrópica dos genes (FALCONER, 1987), ou seja, condição em que mais de uma característica é afetada por um único gene (BORÉM, 1997). O segundo fator de interesse para o estudo de correlações entre características é o auxílio que este tipo de análise pode prestar para o melhor entendimento de quais efeitos serão causados em outras características, ao se realizar seleção

artificial em determinada característica. Por fim, análises de correlação possibilitam estabelecer a relação entre uma característica métrica e o poder adaptativo da espécie, ao se tratar de seleção natural (FALCONER, 1987).

Estas correlações podem ser medidas de forma simples, através de correlações fenotípicas, genotípicas e ambientais (FALCONER, 1987). A correlação fenotípica possui tanto causas genéticas como ambientais, entretanto, somente as causas genéticas relacionam-se com a natureza herdada do caráter, tornando necessária a distinção e quantificação do grau de associação genética e ambiental entre as características (CRUZ e REGAZZI, 1994).

A correlação genética procura explicar, por meio de mecanismos genéticos, a variação conjunta de duas características. Nesse contexto, a ligação e pleiotropia são os fenômenos genéticos que explicam a ocorrência de correlações. Isto ocorre porque, quando dois genes tendem a ser transmitidos a um mesmo gameta, originando um indivíduo que poderá ou não expressar os fenótipos correspondentes aos alelos herdados. Situação semelhante irá ocorrer, quando o gene em questão é pleiotrópico. Neste caso, haverá a tendência dos fenótipos associados a um mesmo alelo sempre ocorrerem juntos (RAMALHO et al., 2004b).

O componente rendimento de grãos de feijão é consequência do hábito de crescimento, do ciclo de vida, do ambiente, do sistema de produção, das práticas de manejo, dentre outras. Entre estes determinantes do rendimento de grãos, alguns são intrínsecos do genótipo. Nos últimos anos, tem sido dada ênfase para cultivares de ciclo de vida curto, de hábito de crescimento determinado, de plantas eretas, com uniformidade de maturação e sementes de tamanho e formas uniformes, além de ampla adaptabilidade. O encurtamento do ciclo, importante em condições desfavoráveis de cultivo, está diretamente associado ao menor potencial individual de rendimento de grãos. Em cultivares de hábito indeterminado, cada dia de encurtamento de ciclo pode resultar na redução de 74 Kg ha<sup>-1</sup> no rendimento (WHITE et al., 1991) e, para cada 100 mg de aumento na massa de grãos, o rendimento reduz 280 Kg.ha<sup>-1</sup>.

Segundo Vencovsky e Barriga (1992), um melhorista deve se preocupar em aprimorar o material genético, não para características isoladas, mas para um conjunto destas, simultaneamente, fazendo da análise de correlações uma

ferramenta para conhecer as relações existentes entre estas características, auxiliando na escolha do procedimento mais eficiente a ser adotado para o melhoramento da espécie. Além disso, quando um caráter apresenta algum aspecto desfavorável, como baixa hereditabilidade ou dificuldades de mensuração e seleção neste caráter, a seleção por meio de características correlacionadas com este caráter é de grande importância nos trabalhos de melhoramento. Na presença de correlação genética favorável, podem-se estimar os ganhos por seleção para determinado caráter, mediante a seleção indireta em outras características associadas, podendo, assim, levar a progressos mais rápidos do que comparados à seleção direta neste caráter (CRUZ e REGAZZI, 1994).

O conhecimento da correlação entre caracteres pode ser primordial, quando o objetivo é a seleção simultânea de caracteres, ou quando um caráter de interesse revelar baixa hereditabilidade, sendo de difícil identificação e resposta para obter ganho genético (SANTOS e VENCOVSKY, 1986). Ao selecionar um caráter de alta herdabilidade, de fácil aferição e identificação, e que evidencie alta correlação com o caráter desejado, o pesquisador poderá obter progressos mais rápidos em relação ao uso de seleção direta (FALCONER e MACKAY, 1996).

Ferrão et al. (2002) estudaram as correlações genótípicas entre várias características em feijão, considerando as estimativas de correlações genótípicas maiores de 0,7. As mesmas foram obtidas somente para as combinações número de dias para florescimento e rendimento de grãos, número de sementes/vagem e número de dias para colheita.

Estudos de correlação do rendimento de grãos têm sido utilizados como indicativo de cultivares com tolerância a doenças em feijão. Abreu et al. (2003) utilizou esta característica na seleção para resistência ao *Colletotrichum lindemuthianum*, agente causador da antracnose no feijão. Em condições de elevada incidência de antracnose só se destacaram em produtividade de grãos aquelas famílias que apresentaram um bom nível de resistência ao patógeno, o que reforça a importância econômica das informações de avaliação de incidência do *C. lindemuthianum* no feijoeiro. Considerando que, em praticamente todos os programas de melhoramento, a produtividade é sempre o caráter que recebe maior atenção, os resultados obtidos neste trabalho

evidenciam que, mesmo não sendo efetuada a seleção para resistência ao *C. lindemuthianum*, indiretamente isso é efetuado, sem custo adicional, pela identificação das famílias mais produtivas. Desta forma, a produtividade de grãos pode ser utilizada isoladamente ou em conjunto com a nota de presença ou ausência ou níveis de avaliação de doença para realizar com maior eficiência a eliminação das famílias e/ou linhagens susceptíveis aos patógenos (ABREU et al., 2003).

## **2.5. Recursos genéticos e banco de germoplasma**

A subsistência da humanidade depende dos recursos genéticos que são importantes componentes da natureza, uma vez que os mesmos suprem as necessidades básicas da população e são elementos fundamentais para resolver os problemas, tais como a fome e a pobreza. Existem 800 milhões de pessoas desnutridas no mundo, dos quais 200 milhões são crianças menores de cinco anos (FAO, 1996).

Germoplasma é definido como o conjunto de genes representados pela soma de todos os alelos existentes em uma determinada espécie (RAMALHO et al., 2004b). Pode significar também a soma total dos materiais de uma espécie (ALLARD, 1999). Assim o germoplasma é indispensável ao melhoramento genético, já que para se obter sucesso e ganho com seleção, necessariamente deverá existir variabilidade genética.

A diversidade biológica e os recursos genéticos, que compõem esta diversidade, são recursos estratégicos, em se tratando de segurança alimentar e de produção de novos medicamentos. O Brasil possui entre 15 e 20% de toda a biodiversidade do planeta, o que o coloca na posição de país detentor da maior diversidade biológica mundial. Por isso, tornam-se prementes estudos e trabalhos que venham salvaguardar este patrimônio em âmbito nacional e regional.

Os programas de melhoramento estão fundamentados na utilização da diversidade genética, para a criação e seleção de novas cultivares com alto potencial produtivo, de modo a contribuir para minorar o grande problema da fome e desnutrição de nossa população (OSUNA, 1985). No entanto, de todas

as espécies vegetais até hoje existentes, cerca de 99,9% já foram extintas. O valor de 0,1 % corresponde a 300.000 espécies descritas atualmente. Destas 300.000 espécies, o homem utilizou cerca de 3.000. Hoje, porém, emprega não mais do que 300. Somente 15 constituem 90% de sua dieta média (PATERNIANI, 1988).

A busca constante por maior produtividade e melhor qualidade dos produtos vegetais, a expansão da área de plantio, a ocorrência de estiagens prolongadas, com relativa freqüência (VICTORIA e TEIXEIRA, 1998), resulta na diminuição da variabilidade genética acumulada ao longo dos anos, bem como o resultado das seleções natural e humana (ENDER et. al.,1998). Para contrabalançar esta perda de material genético, é de vital importância conservá-los para benefício das gerações presentes e futuras. O aproveitamento dos recursos genéticos locais contribui para tornar os agroecossistemas mais equilibrados, pois tais cultivares encontram-se adaptados às condições edafoclimáticas da região em uso.

O germoplasma pode ser subdividido em três categorias, de acordo com Hernandes (1998):

- a) cultivares tradicionais ou primitivos ou raças regionais, mantidas pelos agricultores (“crioulas”) e possuidoras de ampla variabilidade genética e grande adaptação, pois são cultivares submetidos normalmente a uma pressão de seleção por vários anos;
- b) cultivares melhorados, obtidos através de melhoramento genético e predominantemente no comércio de sementes;
- c) parentes silvestres, conhecidos como “indigens” (espécies silvestres afins) e relacionados com os “cultigens” (espécies cultivadas), de importância fundamental para os programas de melhoramento genético, no que se refere à resistência a doenças, pragas e condições adversas do meio.

Alguns centros de pesquisa agrônômica e universidades, tanto na América quanto fora dela, possuem coleções valiosas de feijão e de outras leguminosas comestíveis. A maior coleção de *Phaseolus* existente pertence ao Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). Esta coleção contém cerca de 40.000 acessos, dos quais, 26.500 da espécie *Phaseolus vulgaris* L. e seus ancestrais silvestres constituem o maior componente (89,5%), seguido pelas espécies *Phaseolus lunatus* (5,5%), *Phaseolus coccineus* (1,0%) e espécies

silvestres não ancestrais (22 espécies, ou apenas 0,6% do total da coleção). Isto permite que se tenha uma idéia da dimensão da variabilidade armazenada, à disposição dos pesquisadores (CIAT/CGIAR, 2006).

No Brasil, existe a rede nacional de bancos de germoplasma que é coordenada pelo Centro Nacional de Recursos Genéticos e Biotecnologia, Embrapa/Cenargen. Este Centro desenvolve pesquisas e atividades rotineiras de enriquecimento, conservação, caracterização e avaliação de germoplasma, com o objetivo de aumentar e usar sua variabilidade genética. Tais atividades são documentadas através de um sistema próprio de informação. Especial atenção tem sido dada ao germoplasma que vem do exterior, visto que cerca de 80% da produção de alimentos no Brasil é geneticamente dependente de espécies exóticas. O Cenargen também gerencia um sistema nacional de curadoria de recursos genéticos, o qual está ligado com mais de 235 bancos de germoplasma, onde mais de 250.000 amostras de plantas, animais e de microorganismos são conservados. Estes bancos são partes do Sistema Nacional de Pesquisa Agrícola (SNPA), coordenado pela Embrapa (FONSECA et al., 2002).

O Banco ativo de germoplasma (BAG) de feijão da Embrapa Arroz e feijão- CNPAF, faz parte dessa rede nacional de Bancos e tem as funções de introduzir materiais provenientes de instituições de pesquisa e de expedições de coleta, armazenar o germoplasma em condições controladas, multiplicar o material, avaliar e caracterizar os acessos e atender aos pedidos de sementes de pesquisadores. A coleção BAG do CNPAF é composta de, aproximadamente, 14.100 acessos registrados, dos quais 7880 são nacionais e 5.760 do exterior. Dentre os acessos nacionais, 31% são representados por germoplasma tradicional, oriundo de coleções em diversas regiões produtoras do país, Silva e Fonseca (2005). Existem também coleções de feijões mantidas por Universidades e Empresas Estaduais de Pesquisa.

Para o caso da conservação *ex situ*, existem várias maneiras de conservar germoplasma, que são: coleção de base, coleção ativa, coleção de trabalho, coleção *in vitro* e coleção nuclear (core collection). Dentre estas, destaca-se a coleção nuclear, por cumprir um papel essencial de incentivar o uso de germoplasma em face de obrigar o conhecimento dos acessos conservados.

Uma coleção nuclear é uma amostra representativa de uma coleção de germoplasma, na qual se procura manter a variabilidade genética da coleção de base, com um mínimo de redundância, ou seja, não permite o uso de indivíduos aparentados. Esta estratégia permite maior rapidez na avaliação do germoplasma, diminuindo custos e permitindo melhor acesso à coleção de base. Também permite concentrar esforços do programa de recursos genéticos para assegurar maior disponibilidade de germoplasma para os programas de melhoramento, resultando em eficiente utilização destes (ABADIE et al., 2000).

A caracterização do germoplasma vegetal de uma dada espécie assume capital importância, não apenas na avaliação dos recursos genéticos que compõe um inventário de um país, mas principalmente com vistas ao uso imediato nos programas de melhoramento (EMYGDIO et al., 2002). Entre as coleções de germoplasma (base, ativa e nuclear), a coleção ativa é conservada em ambiente controlado de 12°C e 25% de U.R. (armazenamento em médio prazo), amostras de germoplasma com demanda atual na pesquisa. Esta tem como atividades a introdução dos acessos pela documentação e arquivamento, facilitando a identificação, tanto pelo código de entrada e outras características que possam acompanhar os acessos, a manutenção da coleção em condições viáveis, como a multiplicação para obtenção de sementes de alta qualidade e em quantidades suficientes para atender à coleção, a longo prazo, e à demanda dos usuários. A regeneração para a manutenção da integridade genética da amostra, a caracterização e avaliação, visando à individualização fenotípica de cada acesso, o intercâmbio (distribuição e troca) de germoplasma, a utilização do germoplasma e o Banco de dados informatizados, são atribuições destas coleções (ABADIE et al., 2000).

As cultivares tradicionais de feijoeiro comum freqüentemente exibem ampla variabilidade genética em relação à cor e brilho do tegumento, à adaptabilidade, às condições climáticas, ao potencial de rendimento, ao tempo de cozimento e escurecimento do tegumento durante a estocagem e à resistência a doenças. Com isto, pesquisas com este tipo de germoplasma justificam-se num contexto sustentável dos pequenos agricultores.

A conservação dos recursos genéticos das plantas cultivadas, como os materiais tradicionais (crioulos) adaptados a uma determinada região, é atualmente uma das questões mais discutidas, principalmente pelo reflexo da

implementação da Lei de Proteção de Cultivares, Nº 9456, de 25 de abril de 1997, regulamentada pelo decreto lei 2366/97 (BRASIL, 2005). Esta Lei fez com que houvesse uma retração no intercâmbio de germoplasma entre instituições de pesquisa e, por conseqüência, deixando os agricultores dependentes da aquisição de sementes de grandes companhias que mantêm o monopólio em vários setores. Por este fato, há uma crescente importância no que se refere ao resgate e conservação dos recursos genéticos nas regiões de cultivos, especialmente no âmbito da agricultura familiar. A salvaguarda de tais recursos genéticos evitará que esse patrimônio dos agricultores seja perdido ou transferido para outros países.

Por outro lado, a Lei de Proteção de Cultivares, abriu perspectivas para os obtenedores de novas variantes de germoplasma vegetal, terem seus direitos sobre este germoplasma legalmente protegidos. Para isto, torna-se necessário que o germoplasma, para ser protegido, seja caracterizado de acordo com os descritores estipulados no DL 2366/97 (BRASIL, 2005). Deste modo, numa perspectiva de desenvolvimento sustentável, a atenção de pesquisadores deve ser voltada para a busca de tecnologias adequadas, para que culturas, como o feijão, possam, não só continuar a existir, mas também serem praticadas, conservando os recursos naturais e incrementando sua produtividade e qualidade (TESTA e NADAL, 1995).

A geração e a adaptação de tecnologias alternativas, apropriadas a diferentes escalas de produção, devem ser intensificadas, dando-se ênfase àquelas de baixo custo e voltadas para as pequenas áreas. Neste aspecto, o resgate e caracterização de cultivares tradicionais de feijão, associada ao melhoramento genético, poderá disponibilizar novas cultivares com melhor adaptação às regiões específicas de cultivo.

A coleta e a preservação dos acessos que representam a variabilidade genética desse germoplasma, numa determinada região, são fundamentais para prevenir a erosão genética da espécie, ampliando a variabilidade genética, indispensável para o sucesso de qualquer programa de melhoramento genético.

Em expedições de coleta de germoplasma, várias amostras são obtidas em uma mesma região, ocorrendo duas situações, ou seja, repetições que aumentam o trabalho do Banco de germoplasma, reduzem espaço disponível

para conservação de outras amostras e não contribuem para o enriquecimento da variabilidade genética e para a preservação e avaliação do material (FONSECA e SILVA, 1999).

Apesar de todos os esforços da pesquisa em desenvolver novos cultivares, no Brasil, a utilização de feijão com sementes melhoradas ainda é muito baixa. A taxa de utilização de sementes fiscalizadas é de 20% em Santa Catarina, sendo que, em muitos Estados o percentual de uso, no que se refere ao feijão, é de apenas 10%, enquanto que a soja está em torno de 70% (ABRASEM, 2006).

Sementes de feijões tradicionais, denominadas “crioulas”, são cultivadas por mais de 70% das famílias dos agricultores, como é o caso do Município de Anchieta, Oeste Catarinense (CANCI et al., 2004) e são destinadas especialmente ao consumo familiar.

Este sistema de utilização do próprio material genético, se por um lado, não contribui para a elevação da produtividade, por outro lado é uma excelente fonte de germoplasma. O sucessivo cultivo de um mesmo material genético aumenta a chance de que ocorram mutações e aqueles que apresentam alguma vantagem adaptativa são preservados. Aliado a este fato, alguns agricultores, com maior vivência na cultura, selecionam também tipos diferentes que, provavelmente, irão lhes proporcionar alguma vantagem (FONSECA, 1993).

## **2.6. Marcadores moleculares RAPD**

Marcadores moleculares são segmentos de DNA que podem estar fisicamente ligados a locos que determinam características de interesse que podem diferenciar dois ou mais indivíduos e são herdadas geneticamente. Os distintos tipos de marcadores moleculares hoje disponíveis, diferenciam-se pela tecnologia utilizada para revelar variabilidade no DNA e, assim, variam quanto à habilidade de detectar diferenças entre os indivíduos, quanto ao custo, à facilidade de uso, à consistência e à repetibilidade.

A introdução da técnica da reação em cadeia da polimerase PCR “Polimerase Chain Reaction” revolucionou os métodos tradicionais de obtenção

de marcadores moleculares que utilizam DNA. Por basear-se nas propriedades de replicação do DNA, o que lhe permite maior facilidade, rapidez e sensibilidade na detecção dos fragmentos marcadores, a técnica PCR alcançou uso extenso nas diferentes áreas da biologia e agronomia (FERREIRA e GRATTAPAGLIA, 1995).

Trabalhando independentemente, Welsh e McClelland (1990) e Williams et al. (1990) descreveram uma nova técnica para gerar marcadores moleculares, com base na técnica PCR. O “Random Amplified Polymorphic DNA” (RAPD) utiliza a reação de 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 do genoma. Quando duas cópias desse primer ligam-se às fitas opostas do DNA, a uma distância entre 200 e cerca de 2.000 pares de nucleotídeos, pela reação de PCR, a região flanqueada pelos primers pode ser amplificada. Portanto, é uma técnica que não exige o conhecimento prévio da seqüência que está sendo amplificada, ao contrário do PCR.

Uma das técnicas que mais estão sendo empregadas pela sua utilidade e baixo custo nos estudos de variabilidade genética entre indivíduos (tanto em plantas como animais ou microorganismos) é o RAPD. Esta técnica é utilizada para definir diferenças ou grau de parentescos entre diferentes espécies vegetais (KAYA e NEALE, 1995), fungos e outros microorganismos (QUESADA e CENIS, 1995) ou procedências de uma mesma espécie. Nos estudos de mapeamento genético, esta técnica tornou-se de uso corrente em lugar do RFLP mais tradicional, devido a sua rapidez e baixo custo (NELSON et al., 1994; KAYA e NEALE 1995).

Ao contrário do PCR, primers de seqüência aleatória são utilizadas técnica RAPD e apenas um é empregado em cada reação realizada pela *Taq polimerase*. Uma das limitações da técnica é não permitir a distinção de indivíduos heterozigotos, por se tratar de um marcador dominante (FERREIRA GRATTAPAGLIA, 1995).

## **2.7. Aplicações dos marcadores moleculares no melhoramento de plantas**

As etapas fundamentais de um programa de melhoramento de plantas são: a obtenção da variabilidade genética, seleção de indivíduos superiores e avaliação de materiais genéticos promissores para lançamento comercial. Apesar de ganhos genéticos significativos terem sido obtidos na seleção de características de interesse na maioria das espécies de importância agrônômica, a expectativa de progresso e obtenção de indivíduos ainda melhores permanece. Por esta razão, os melhoristas de plantas têm buscado formas de continuar obtendo ganhos genéticos, tornando cada vez mais eficiente cada uma das etapas do programa.

O melhoramento de plantas tem papel fundamental no desenvolvimento da agricultura, gerando novas cultivares em espécie de interesse econômico. O aumento na eficiência de seleção, o melhor conhecimento e caracterização de germoplasma e a maximização dos ganhos genéticos têm sido objetivos de melhoristas de plantas do mundo inteiro. Novas formas de alcançar estes objetivos foram constantemente perseguidas pelo melhoramento de plantas. Advém daí o interesse pelas tecnologias, como é o caso dos marcadores moleculares de DNA (MILACH, 2000).

A essência deste progresso está no quanto o fenótipo de um indivíduo expressa o seu genótipo. Por isso, o uso de marcadores moleculares pode auxiliar o melhoramento de plantas, pois possibilita acessar diretamente o genótipo de um indivíduo. Assim, entre as principais aplicações de marcadores de DNA em programas de melhoramento de plantas estão: monitoramento e organização da variabilidade genética; a seleção assistida por marcadores moleculares; e a proteção de cultivares. Os marcadores foram utilizados no melhoramento de plantas no início da década de 80 (FERREIRA e GRATTAPAGLIA, 1995).

Uma das aplicações diretas dos marcadores moleculares consiste em correlacionar os polimorfismos das seqüências nucleotídicas com caracteres qualitativos e quantitativos, uma vez que os produtos de amplificação de cada primer poderão estar segregando juntamente com alguma característica de

interesse. Se isto for verificado, então o referido primer será um marcador para essa característica (WILLIAMS et al., 1990; FERREIRA e GRATTAPAGLIA, 1995).

Cabe salientar, contudo, que estas aplicações não devem ser generalizadas a todos os programas de melhoramento, e não terão a mesma importância em todas as espécies de plantas. Isto porque o modo de reprodução, as características de interesse, o valor da unidade de seleção, o progresso genético já obtido em outros aspectos pertinentes, variam grandemente entre espécies e entre os programas de melhoramento (MILACH, 2000).

Tradicionalmente, a diversidade genética em feijão tem sido avaliada por meio de marcadores morfológicos, tais como, o hábito de crescimento, o tipo de semente, a resistência a doenças e às pragas (SINGH et al., 1991). Entretanto, esses marcadores são afetados pela ação gênica de dominância, efeito ambiental, pleiotropia e epistasia, tornando menos estáveis suas caracterizações.

Os marcadores moleculares têm demonstrado eficácia na avaliação da variabilidade genética dentro e entre populações de plantas e na elucidação de parentescos entre acessos dentro de uma espécie. Nos programas de melhoramento, a informação da diversidade genética dentro de uma espécie é essencial. É particularmente útil na caracterização individual dos acessos das cultivares e como guia na escolha dos pais em programas de cruzamento (LOARCE et al., 1996). A eficiência de marcadores RAPD em detectar grau de parentesco entre genótipos de feijão foi verificada por Bai et al. (1998), mediante análise de um esquema de cruzamentos e comparação com o coeficiente de parentesco.

Com a utilização de marcadores RAPD, Beebe et al. (1995), constataram que feijões que possuíam sementes pretas e vermelhas, intimamente aparentados, da América Central, formaram dois grupos distintos.

Com o objetivo de caracterizar a diversidade genética dentro e entre cultivares locais e comerciais de feijão de diversas regiões do Rio Grande do Sul, Emygdio et al. (2003), realizaram análises por meio de marcadores RAPD, também avaliaram a capacidade destes marcadores em agrupar genótipos de feijão de acordo com o centro de domesticação e coloração das sementes.

Observaram que, em geral, o grau de similaridade encontrado, tanto entre as cultivares comerciais quanto entre as locais, representa reduzida variabilidade molecular em relação ao uso de RAPD. No entanto, esta situação se contrapõe com a diversidade de características morfológicas e agronômicas observadas entre estes genótipos. Isto pode ser atribuído à pressão de seleção artificial a que são submetidos, seja pelos melhoristas, nas cultivares comerciais, ou pelos próprios agricultores, nas cultivares locais. Por sua vez, os marcadores bioquímicos e moleculares não têm efeito direto sobre o fenótipo da planta, por isso não são afetados diretamente pelo processo de seleção.

Análises moleculares por meio de RAPDs em germoplasma de feijão revelaram resultados que complementaram conceitos anteriores quanto a sua estrutura racial (BONIERBALE et al., 1995). Segundo estes autores, marcadores RAPD também foram desenvolvidos para aipim com o uso de seqüências de 10 nucleotídeos, os quais foram úteis para estudos de mapeamento das heranças de cruzamentos interespecíficos e para estudos de variabilidade genética.

Também em feijão Franco et al. (2001) utilizaram marcadores RAPD para avaliar a diversidade genética entre 19 cultivares de feijão, encontraram 70 locos polimórficos; foram feitas análises de agrupamento pelo emprego dos métodos UPGMA e Tocher, as quais confirmaram a ampla diversidade genética existente entre germoplasmas tropicais de feijão.

Os marcadores moleculares são utilizados para estudos de origem e estrutura genética de populações tradicionais de feijoeiros em continentes e regiões, como os efetuados na América Latina e Nordeste da Argentina por Beebe et al. (2001) e Cattán-Toupance et al. (1998), respectivamente.

Outra técnica que recentemente está sendo adotada para estudos biológicos é o uso de microsatélites. Os microsatélites são uma importante classe de marcas genéticas, devido a sua abundância e hipervariabilidade, cuja aplicação é útil para distinguir entre genótipos com grau de parentesco muito próximos. Também é utilizado na relação e evolução das espécies e em trabalhos de mapeamento genético (CHAMBERS e MACAVOY, 2000).

A seleção precoce, embora seja utilizada com eficiência para alguns caracteres de baixa herdabilidade, tais como rendimento de grãos, não tem demonstrado a mesma eficiência. Os marcadores moleculares vêm sendo

utilizados de várias formas para auxiliar no melhoramento. A utilização de marcadores moleculares ligados a QTLs que controlam esta característica, por meio da seleção assistida por marcadores (SAM) poderia melhorar a eficiência da seleção precoce para a produtividade de grãos. Vários resultados de simulação e mesmo resultados experimentais têm mostrado maior eficiência da seleção assistida por marcadores nas primeiras gerações segregantes ou no início dos programas de melhoramento.

Na cultura do feijão, caracteres quantitativos têm sido estudados com a utilização de marcadores associados a QTLs, (quantitative trait loci) entre eles a produtividade de grãos (RODRIGUES, 2002; TEIXEIRA, 2004) e na identificação de QTLs associados à resistência a doenças (ENDER e KELLY, 2005). Entretanto, devido a elevada interação de QTLs por ambientes e a enorme diversidade ambiental onde se pratica a cultura no Brasil, o uso deste tipo de marcador na cultura do feijão ainda não se consolidou (SANTOS, 2006).

Pereira e Santos (2005) utilizaram informações moleculares e fenotípicas na escolha de populações segregantes de feijoeiro comum. Selecionaram quatro populações originais do cruzamento de linhagens/cultivares diferentes das utilizadas na identificação dos marcadores associados a QTLs, sendo portanto promissoras para a verificação da eficiência da SAM em feijão, a partir da seleção posterior de famílias dentro das populações.

Os marcadores moleculares, mais recentemente, têm sido utilizados na caracterização de cultivares, quando de seu lançamento comercial (SOUZA et al., 2005).

## 2.8. Divergência genética

Ao iniciar um programa de melhoramento de plantas, a escolha dos genitores que participarão dos cruzamentos é um passo fundamental para obter uma população de base genética ampla em que a seleção será praticada. Devido ao grande número de combinações possíveis entre genitores, torna-se impossível a obtenção de todas, sendo assim, a alternativa é proceder a uma escolha criteriosa dos genitores e concentrar esforços de seleção apenas dentro das combinações mais promissoras (RAMALHO et al., 1993).

O objetivo principal do programa de melhoramento genético em feijoeiro, assim como em outras culturas, consiste em obter novos genótipos com rendimento superior, quando comparados às cultivares em uso atual.

Devido à grande quantidade de germoplasma de feijoeiro em avaliação num programa de melhoramento todos os anos, há necessidade de obter informações quanto à sua caracterização, bem como diversidade genética entre as cultivares e linhagens, para utilizá-las de modo mais racional, seja para utilização direta em um programa de melhoramento, ou para sua conservação. Portanto, torna-se necessário o uso de métodos que proporcionem melhor avaliação e caracterização do potencial genético para aproveitamento destes materiais em programas de melhoramento.

A divergência genética entre dois ou mais indivíduos é medida pela diferença nas freqüências alélicas. Essa medida é importante em vários aspectos, mas sobretudo no melhoramento de plantas, visando identificar combinações mais promissoras, isto é, aquelas que, quando cruzadas, expressem maior heterose (FALCONER, 1987).

Nem sempre é fácil medir a divergência genética, pois exige o envolvimento de vários caracteres ao mesmo tempo. Para isso, foram adotados vários métodos bioquímicos, como o uso de isoenzimas (BRONDANI, 1993) e, sendo mais utilizado recentemente fragmentos polimórficos de DNA (SANTOS et al., 1992). Essa última técnica é especialmente promissora, mas tem o inconveniente do elevado custo. A de isoenzimas é dificultada pelo pequeno número de isoenzimas disponíveis para análise, não permitindo assim, uma medida precisa da divergência.

Uma das técnicas que pode ser de utilidade para este fim, bem como para seleção de progenitores, quando estão envolvidas hibridações, é o estudo de divergência genética entre genótipos.

Falconer (1987) derivou uma expressão denominada “mid parent heterose” (média dos genitores), na qual considera o esforço conjunto de todos os locos que diferem em cruzamentos entre duas linhagens ou populações, como:  $H = \sum d y^2$  onde  $d$  inclui o efeito devido à dominância e, portanto, a heterose depende da ocorrência da dominância;  $y^2$  é o quadrado da diferença das freqüências gênicas entre as linhagens e determina a quantidade de heterose expressa no cruzamento. A heterose é específica para cada cruzamento, pois cada cruzamento possui diferentes valores de  $\sum d y^2$ .

Conforme Cruz e Regazzi (1994), a avaliação da diversidade genética entre um grupo de progenitores tem sido feita para identificar as combinações híbridas de maior efeito heterótico e maior heterozigose, de modo a aumentar a probabilidade de se recuperar genótipos superiores nas gerações segregantes.

Dentre os procedimentos disponíveis de escolha de genitores, tendo como base o desempenho de suas progênies, os cruzamentos dialélicos foram amplamente empregados (RAMALHO et al., 1993). Por meio deste procedimento, pode-se estimar a capacidade específica de combinação (CEC) que é correlacionada com a variabilidade das populações segregantes. Com este procedimento, pode-se também estimar a Capacidade Geral de combinação (CGC) que estima o potencial produtivo das populações em estudo (MACHADO, 1999). Vencovsky e Barriga (1992) relatam que a técnica de cruzamentos dialélicos é de grande eficiência para obter informações sobre a base genética da espécie usada em programas de melhoramentos.

De acordo com Miranda Filho e Geraldi (1984), o uso de cruzamentos dialélicos muitas vezes é limitado, em virtude do grande número de cruzamentos necessários para avaliar um grupo de cultivares. Nem sempre existe a avaliação de todas as possíveis combinações, através de um dialelo completo, principalmente diante da dificuldade de obter sementes híbridas suficientes em certas espécies, tais como feijão e aveia (KUREK et al., 2001). Com isto, uma das alternativas é o estudo da diversidade genética, a qual

poderá orientar os possíveis cruzamentos mais promissores em um determinado conjunto de germoplasma.

A avaliação da divergência genética e suas relações com os cruzamentos dialélicos foram estudadas por Ferreira et al. (1995). Observaram que a avaliação da divergência genética, através das técnicas multivariadas realizadas *a priori* em populações de milho, evitariam a realização da maioria dos cruzamentos, com redução nos custos e melhoria das precisões nas avaliações; a divergência detectada foi pequena, restringindo-se basicamente a duas populações em relação às 26 avaliadas no referido estudo. Este fato contribuiu para que houvesse pequena variação nas estimativas da capacidade específica de combinação e heterose.

A análise da divergência genética tem sido feita por meio de técnicas biométricas e processos preditivos. Dentre as técnicas biométricas, destacam-se as análises dialélicas que avaliam as capacidades de combinação dos progenitores, tanto geral como específica, e também a heterose manifestada nos híbridos. Como esse processo exige a avaliação dos progenitores com suas combinações híbridas, o aumento do número de progenitores pode torná-lo inviável.

Assim pode ser conveniente a utilização de processos preditivos baseados em diferenças entre os progenitores, quantificadas por uma medida de dissimilaridade, e os genótipos podem ser agrupados de modo a existir homogeneidade dentro dos grupos e heterogeneidade entre eles.

Na cultura do feijão, a análise da diversidade genética foi realizada em vários países e regiões por diferentes instituições de pesquisa. O objetivo principal destes trabalhos é conhecer e caracterizar o germoplasma local para fins de utilização em programas de melhoramento desta cultura. Franco et al. (2001) avaliou a diversidade genética entre 19 cultivares de feijão, com o emprego de 15 primers decâmeros. Por meio de coeficiente de Jaccard e de análises de agrupamento UPGMA e de Tocher, confirmaram-se ampla diversidade genética existente entre os germoplasmas tropicais de feijão, separando-se em dois grupos principais: Andino, composto de genótipos de sementes médias e grandes e Mesoamericano, que apresentam sementes pequenas. No grupo Andino, foi verificada diversidade genética relativa maior do que no Mesoamericano.

A estrutura genética das cultivares de feijão comum reflete a estrutura, tanto das cultivares silvestres quanto das ancestrais. Os principais grupos gênicos existentes foram distinguidos pela presença de phaseolina em sementes (GEPS e BLISS et al., 1988).

Os estudos de divergência genética, utilizando tanto marcadores morfológicos como marcadores moleculares são complementares. SINGH et al. (1991) utilizaram estes marcadores para examinar a organização e estrutura genética de 306 landraces da América Latina. Esses autores trabalharam com dados de pigmentação, hábito de crescimento, vagens, sementes e caracteres fenológicos, bem como reação a importantes doenças do feijão. Em adição ao estudo, as mesmas 306 cultivares foram caracterizadas em eletroforese para phaseolina e nove tipos de aloenzimas. As análises moleculares juntamente com caracteres agrônômicos e morfológicos permitiram a separação destas cultivares nos grupos Andinos e Mesoamericanos, bem como a existência de subgrupos, nestes grupos relacionados.

Muitos outros estudos têm sido realizados, fundamentados em marcadores moleculares, Beebe et al. (2001) com o objetivo de determinar a estrutura genética dentro das Américas; analisaram uma coleção de 269 landraces de feijões comuns pela semelhança da análise dos dados de RAPD. Observaram o grupo estudado em Raça M, D e J. No primeiro, de origem Mexicana, predominam as cultivares de grãos pretos e de crescimento ereto. Já no grupo da Raça M, a maioria das sementes é de cor e pequenas, também originárias da América Central. Os grupos diferenciaram-se morfológicamente e pela origem geográfica. Assim, o germoplasma de feijão comum da América Central é mais complexo do que se pensava previamente e contém diversidade que permanece para ser explorada por seu valor para melhoramento e, conseqüentemente, para a alimentação.

Na América do Sul, estudos também foram realizados com o objetivo de caracterizar germoplasma de feijoeiro. Cattán-Toupance et al. (1998), estudaram 21 populações locais de feijoeiro da Argentina, onde a variabilidade genética foi acessada por marcadores moleculares e de resistência, detectando variabilidade dentro e entre as populações estudadas. Os autores ressaltam que, embora a diferenciação conjunta populacional tenha sido significativa para os marcadores utilizados, nenhuma correlação foi encontrada entre as

distâncias populacionais calculadas pelos RAPDs e resistência. Este resultado indica que a seleção do patógeno pode ser um fator importante, influenciando na distribuição das cultivares dentro e junto de populações, bem como de plantas hospedeiras.

O germoplasma tradicional pode constituir fonte de resistência a doenças do feijoeiro; neste sentido, Araya et al. (2000) avaliaram feijões tradicionais da Costa Rica, identificando genótipos com resistência à antracnose e à mancha angular. No referido estudo, foram avaliados 173 cultivares de feijões, incluindo 46 cultivares tradicionais e 127 linhagens melhoradas. Deste conjunto de cultivares avaliadas, 21 cultivares tradicionais e 13 linhagens melhoradas mostraram-se resistentes à antracnose, comprovando o valor de uso deste germoplasma, para fins de melhoramento na região avaliada.

A técnica RAPD foi utilizada para caracterização e determinação de distâncias genéticas entre doze genótipos de feijão que são utilizados internacionalmente, para diferenciar raças de *Colletotrichum lindemuthianum*. Vilarinhos et. al. (1995) utilizaram vinte e quatro diferentes oligonucleotídeos iniciadores (“primers”), onde encontraram 59 bandas polimórficas. Neste estudo, empregou-se a análise de agrupamento pelo método Tocher, com base no complemento aritmético do índice de Jaccard e pelo método do vizinho mais próximo. Estes métodos possibilitaram agrupar as cultivares em grupos similares.

O estudo de dissimilaridade genética é de grande importância em programas de melhoramento, pois fornece parâmetros para a identificação de genitores que, quando cruzados, possibilita maior efeito heterótico na progênie e maior probabilidade de gerar genótipos superiores nas gerações segregantes (CRUZ, 1990). Estudos de dissimilaridade foram realizados por Ribeiro e Storck (2002), que avaliaram 20 caracteres agromorfológicos em 41 cultivares e linhagens de feijoeiro. Em função da dissimilaridade genética, definiu as combinações híbridas mais promissoras na geração de linhagens superiores, ou seja, aquelas que possibilitam maior variabilidade nas populações segregantes. O conhecimento da dissimilaridade genética entre os genitores potenciais, possibilita a racionalização das hibridações controladas e aumenta as chances de eficiência dos programas de melhoramento genético.

Outros estudos foram desenvolvidos por Rodrigues et al. (2002) que avaliaram 37 cultivares locais (land races) do Rio Grande do Sul e 14 cultivares indicadas pela pesquisa no Estado. Utilizaram 40 descritores morfológicos. Neste estudo, as cultivares locais revelaram variabilidade superior à encontrada nas cultivares oriundas da pesquisa, bem como possibilitou a identificação de descritores ineficientes ou redundantes.

Em outros países onde o feijão assume importância econômica e social para a população, também são realizados estudos no germoplasma local. Kalia et al. (2001) analisaram a divergência genética de cultivares indígenas melhoradas, existentes na Índia, identificaram grupos distintos entre cultivares avaliadas e realizaram cruzamentos entre aquelas mais divergentes. Ressaltaram no trabalho, que se devem considerar também outros caracteres, como resistência a doenças.

A divergência genética foi utilizada para verificar os efeitos da domesticação e seleção em cultivares ancestrais do feijoeiro, Garcia et al. (1997) analisaram características morfológicas e agronômicas em populações silvestres de feijoeiro no México. Constataram que, com o processo de domesticação e seleção, reduziu-se a variabilidade média dos caracteres estudados.

Estudos da diversidade genética entre germoplasma de feijoeiro têm sido realizados, utilizando-se principalmente características morfológicas e de importância agronômica. No entanto, tornam-se cada vez mais importantes as características de qualidades nutricionais. Alguns trabalhos têm determinado caracteres de importância nutricional e culinária. Casañas et al. (1999) estudaram a cultivar tradicional Ganxet, cultivada no nordeste da Península Ibérica. Para tanto, selecionaram 46 linhas puras desta população e compararam com cultivares comuns de feijão no que se refere ao conteúdo de amido, de proteína e de fibra. Para caracteres agronômicos, encontraram diferenças significativas entre linhas puras da variedade, Ganxet, e entre as cultivares comerciais, bem como diferenças relativas a características nutricionais.

Análises mais detalhadas da qualidade nutricional em feijão foram realizadas por Moraghan e Grafton (2001) que verificaram a concentração de nove elementos essenciais para a nutrição humana; encontraram diferenças

significativas na maioria dos elementos, identificando cultivares com elevadas concentrações de Fe e de Ca, na cultivar Voyager, a qual poderá ser escolhida como parental para fins de melhoramento para estas características. No entanto, no referido trabalho, foi detectado forte efeito da interação entre as características nutricionais e ambientais, devendo-se, portanto, proceder à seleção em mais de um ambiente.

Por sua vez, Rodiño et al. (2001) caracterizaram 88 cultivares tradicionais de feijão de Portugal, avaliaram por meio de marcadores bioquímicos (phaseolina) e 17 caracteres quantitativos, entre estes o % de proteína, % de óleo, % de amido e total de açúcar, bem como de caracteres agrônômicos e morfológicos. Tiveram como objetivo a determinação do grau de variação destes germoplasmas. Os resultados deste trabalho apresentaram informações sobre a origem, diversidade e valor potencial de uso para melhoramento do germoplasma português, os quais podem ser utilizados como base genética para a cultura na Europa.

## **2.9. Técnicas multivariadas**

As técnicas multivariadas são conhecidas há muito tempo, entretanto sua utilização em maior escala tornou-se possível com a disponibilidade dos recursos computacionais (BOUROCHE e SAPORTA, 1982). Elas possibilitam avaliar simultaneamente vários caracteres, permitindo que inúmeras inferências possam ser feitas a partir do conjunto de dados existentes.

Em diferentes áreas da ciência, entre elas, química, engenharia, psicologia, nas ciências agrárias e ciências ambientais são aplicadas técnicas multivariadas (VALENTIN, 2000). Em se tratando de Banco de germoplasma, merecem destaque o descarte de descritores redundantes, eliminação de amostras repetidas e estimativas da divergência genética.

Em um Banco de germoplasma, todo material deve ser caracterizado para possibilitar sua melhor utilização. O problema está em definir quais descritores devem ser adotados para que essa caracterização seja a melhor possível. Nesse contexto, há muita controvérsia. Há instituições que adotam número excessivo de descritores, sendo o inverso também verdadeiro. Desse

modo, é importante estabelecer criteriosamente quais descritores devem ser utilizados para se ter a otimização dos recursos alocados nessa atividade, possibilitando a perfeita caracterização. Nesse sentido, as técnicas multivariadas têm dado uma boa contribuição, tanto na identificação dos descritores de maior interesse, como no descarte daqueles de pouca relevância para a explicação da variabilidade total (CRUZ e REGAZZI, 1994).

Dentre outras, as técnicas dos Componentes Principais e as Variáveis Canônicas, têm sido as mais utilizadas na avaliação da redundância dos descritores.

## **2.10. Componentes principais**

A análise de Componentes Principais é uma técnica multivariada, proposta por Pearson em 1901 e desenvolvida por Hotelling em 1923 (DIAS, 1998). É essencialmente uma técnica de redução da dimensionalidade espacial dos dados, assim como a análise de agrupamento. A técnica de Componentes Principais tem sido utilizada na identificação dos descritores que, mais ou menos, contribuem para a discriminação entre materiais. Trata-se de uma análise simultânea de múltiplas variáveis que são condensadas em alguns poucos componentes, sem perdas substanciais das informações, (ALFENAS, 1998; CRUZ e CARNEIRO, 2003).

O objetivo principal da análise de componentes principais é a obtenção de um pequeno número de combinações lineares (componentes principais) de um conjunto de variáveis, que retenham o máximo possível da informação contida nas variáveis originais. Frequentemente, um pequeno número de componentes pode ser usado, em lugar das variáveis originais, nas análises de regressões, análises de agrupamentos.

Essa técnica é similar à das variáveis canônicas e, fundamentalmente, consiste em substituir um grupo de  $p$  caracteres pertencentes a  $n$  indivíduos por outro grupo de componentes principais, de modo que os primeiros desses componentes possam concentrar o máximo das informações contidas no conjunto original (CRUZ, 1990; PEREIRA e CRUZ, 2003).

O princípio da análise dos componentes principais está na rotação dos eixos cartesianos, preservando a variância total contida nos dados originais. Existem vários estudos utilizando a técnica dos Componentes Principais. Castineiras et al. (1991), analisando 34 descritores morfo-agronômicos e fenológicos em 60 cultivares de feijão, através da análise de componentes principais, verificaram que os três primeiros componentes explicaram 37,5% da variabilidade total. Para recorrer aproximadamente à metade da variabilidade global (50%), foi necessário tomar até o sexto componente. A variância percentual acumulada de 75,8% ocorreu quando se considerou até o 11º componente principal. O peso de 100 sementes, com outros cinco descritores, foram os que mais contribuíram para a diferenciação entre as cultivares.

Em outro trabalho, Castineiras et al. (1991) avaliaram 96 acessos de feijão provenientes de coleta, utilizando os mesmos descritores anteriores referidos. Os autores, após separarem os caracteres agronômicos (quantitativos) e os botânicos (qualitativos), submeteram apenas os quantitativos às análises de componentes principais. Os valores correspondentes aos três primeiros componentes envolveram 58,8% da variabilidade total. Com base nos maiores coeficientes de correlação, envolvendo o primeiro componente que englobou 32,6% da variação total, destacaram-se os 7 caracteres mais importantes (entre eles o peso de 100 sementes), de um total de 17 considerados inicialmente.

De acordo com Cruz (1990), as análises de componentes principais e variáveis canônicas também têm sido utilizadas como método de agrupamento de indivíduos. A diferença fundamental se baseia no fato de que essas análises, subjetivamente, avaliam os materiais por intermédio de uma dispersão gráfica em que se consideram, em geral, dois eixos cartesianos, enquanto os métodos aglomerativos dependem de medidas de dissimilaridades. Todavia, os métodos aglomerativos permitem o estabelecimento de grupos de maneira menos subjetiva do que aqueles que se verificam nas análises envolvendo dispersões gráficas.

## 2.11. Análise de agrupamento

A análise de agrupamento tem por finalidade agrupar indivíduos com base em medidas tomadas de um conjunto de unidades experimentais, de acordo com seus padrões de similaridades mútuas. A análise pressupõe a existência de grupos e os diversos processos que envolvem essa ampla metodologia, onde o princípio geral de todos os métodos tem sido o de maximizar a similaridade dentro de grupos e a dissimilaridade entre os grupos (CURI, 1983; CRUZ e REGAZZI, 1994).

Do ponto de vista biológico, o processo de agrupamento considera duas situações: A primeira, relacionada com a estimação de uma medida de similaridade (ou dissimilaridade) entre indivíduos a serem considerados e a segunda, com adoção de uma técnica de agrupamento para a composição dos grupos (CRUZ, 1990).

Várias são as medidas de similaridades ou dissimilaridades, e a escolha de uma ou outra é feita subjetivamente, levando-se em consideração vários fatores, como a natureza das variáveis ou as escalas das medidas (FERREIRA, 1993) e, também, a precisão das estimativas e a facilidade de computação dos dados (CRUZ, 1990).

Segundo Dias (1998), em geral, os métodos de agrupamento são classificados em: Métodos hierárquicos aglomerativos (vizinho mais próximo, vizinho mais distante e médias das distâncias) e os divisivos (métodos de partição e métodos de otimização).

Entre as similaridades, são especialmente destacados as distâncias e os coeficientes de correlação. Embora a distância seja uma medida de dissimilaridade, ela é sempre referida como medida de semelhança (CURI, 1983). As principais distâncias utilizadas nas análises de agrupamentos são a Euclidiana e a Estatística  $D^2$  de Mahalanobis.

A utilização da distância de Mahalanobis tem sido a preferida por vários autores (SINGH e SAINI, 1980; DUARTE et al., 1999). Esses últimos autores salientam a aparente predominância da distância da Mahalanobis na literatura e argumentam que ela leva em consideração a possibilidade de correlações

entre caracteres, os quais são medidos por meio de covariâncias residuais entre variáveis (ARUNACHALAN, 1981). Este fato, de pressuposição de independência entre caracteres, é o maior inconveniente da utilização da distância Euclidiana.

Quando diversos caracteres de diferentes genótipos são medidos simultaneamente, aos pares, as distâncias de Mahalanobis ( $D^2$ ) podem ser tomadas como estimativas de diversidade genética entre eles. Essa diversidade é obtida segundo diferenças fisiológicas, morfológicas e agrônômicas, avaliadas a partir de um grupo de genótipos (GHADERI et al., 1984).

A viabilidade da utilização da divergência genética como critério de seleção de genitores tem sido relatado por diversos autores (GHADERI et al., 1984; FRANCO, 2001; CEOLIN, 2003). A correlação positiva entre a divergência e a heterose é indicativa da eficiência da predição do comportamento dos híbridos, em várias culturas, tais como feijão (GHADERI et al., 1984) e milho (FERREIRA, 1993).

De acordo com Ferreira (1993), quando são identificadas correlações residuais significativas entre os diversos caracteres, deve-se preferencialmente utilizar a distância de Mahalanobis. No entanto, há necessidade de distribuição normal multidimensional para o cálculo de  $D^2$ . Todavia, segundo Curi (1983), já foi demonstrado considerável robustez para a violação dessa suposição, fazendo com que a distância de Mahalanobis seja uma opção útil. Além do mais, esta distância proporciona uma análoga entre a análise de agrupamento e outras análises multivariadas.

Muitos têm sido os métodos propostos para a análise de agrupamento (conglomerção), entretanto, os mais utilizados no melhoramento de plantas são os hierárquicos, citados por Sneath e Sokal (1973) e os de otimização, de Tocher.

Os métodos hierárquicos baseiam-se no princípio de que com  $n$  indivíduos inicia-se a formação de  $n$  grupos, cada um contendo um único elemento. Logo, combinam-se dois indivíduos mais semelhantes, ou seja, de menor distância, para originar  $n-1$  grupos. Os grupos remanescentes são combinados para originar  $n-2$  grupos, e assim sucessivamente, até formar um

grupo contendo os  $n$  indivíduos. Este tipo de agrupamento, usando o algoritmo de menor distância, é denominado Método do Vizinho mais Próximo (“Single Linkage Method”). Contudo, se a distância entre dois grupos é definida como a máxima distância entre pares de indivíduos, tomadas de cada grupo, o método de agrupamento é intitulado de Vizinho mais Distante (“Complete Linkage Method”) (FERREIRA, 1993). Além do mais, os métodos hierárquicos são subdivididos em aglomerativos ou divisivos. São aglomerativos quando agrupam os indivíduos por meio de fusões sucessivas e divisivos, quando os indivíduos formam grupos independentes entre si.

Outro método que tem sido muito utilizado é o UPGMA (unweighted pair-group method using the arithmetic average). Neste método, o critério utilizado para a formação dos grupos é a média das distâncias entre todos os pares de itens que formam cada grupo. Em termos de melhoramento genético, Dudley (1994) refere-se ao método UPGMA como superior aos métodos do vizinho mais próximo e mais distante, quando comparados com informação conhecida de “pedigree”.

Nos métodos hierárquicos, os indivíduos ou unidades amostrais são agrupados em vários níveis até que seja constituído um dendograma ou diagrama de árvore. Este critério de agrupamento em dendograma foi utilizado em alguns trabalhos com feijão de vagem (MALUF e FERREIRA, 1983), amendoim (WILCHES, 1983), feijão (CASTINEIRAS et al., 1991) e milho (FERREIRA, 1993).

Uma das alternativas para avaliar a divergência genética entre possíveis progenitores é a Distância Euclidiana, que é uma estatística multivariada, enfatizando as variações de características agronômicas, morfológicas e fisiológicas. A partir das distâncias Euclidianas entre progenitores procede-se o agrupamento destes em grupos distintos. As cultivares contidas dentro de um mesmo grupo possuem distâncias menores do que os situados em grupos diferentes, havendo, portanto, maior semelhança genética entre as cultivares de um mesmo grupo do que entre cultivares de grupos distintos.

Dentre as várias técnicas multivariadas utilizadas, Cruz e Regazzi (1994) citam as análises por componentes principais e variáveis canônicas e os métodos aglomerativos que utilizam a distância Euclidiana ou a distância generalizada de Mahalanobis como medidas de dissimilaridade. Desta forma, é

de fundamental importância escolher dentre estes, aqueles que permitam inferências mais efetivas das constituições genéticas avaliadas. Comparação entre estas técnicas tem sido realizada.

Maluf e Ferreira (1983), comparando a distância Euclidiana e a distância generalizada de Mahalanobis na avaliação de dez cultivares de feijão de corda (*Phaseolus vulgaris* L.), encontraram baixa correlação entre as duas metodologias (0,273) e observaram similaridade na detecção de diferenças intergrupos e discrepância nas diferenças menores (intragrupos) pela análise de conglomeração.

Benin et al. (2002) verificou a baixa correlação entre a distância Euclidiana e de Mahalanobis e as suas inconsistências que, quando utilizadas no estabelecimento de agrupamentos, caracterizam estas duas estimativas como medidas de dissimilaridade diferentes. Da mesma forma, a técnica de componentes principal e variável canônicas evidenciou dispersões gráficas não coincidentes, ficando evidente a diferença entre as duas metodologias.

As análises de agrupamento têm sido utilizadas no estudo da divergência genética, com o objetivo de reunir genótipos para descrever ou identificar materiais promissores em programas de melhoramento. Wilches (1983), a partir de 13 caracteres quantitativos previamente selecionados de um total de 31, através de componentes de variância, estimou a distância de Mahalanobis para cada par de 34 acessos de amendoim. Pelo método de agrupamento, utilizando os valores médios dessas distâncias, estabeleceu um dendrograma onde, com base em critério subjetivo de divergência, os acessos foram agrupados em 5 grupos. Concluiu o autor que a elaboração do dendrograma, além de mostrar alta variabilidade entre os materiais, demonstrou ser um método eficiente na seleção e indicação de fontes desejáveis para futuros trabalhos de melhoramento.

A análise de agrupamento também tem tido sua aplicação em Bancos de Germoplasma. Dentro deste contexto, Castineiras et al. (1991), utilizando essa técnica agrupou dados de 34 caracteres provenientes da avaliação de 60 acessos de feijão do Banco de germoplasma de Cuba.

Cruz e Pereira (1991), comentando as dificuldades encontradas nas análises de dados em Banco de germoplasma, quando um grande número de acessos está envolvido e várias características são avaliadas, argumentam que

nas análises aglomerativas (agrupamentos, variáveis canônicas ou componentes principais), a identificação dos indivíduos em seus grupos, ou dispersão, fica prejudicada. Para sanar este inconveniente, os autores propõem um processo metodológico para a caracterização dos acessos, no qual um grupo original é dividido em subgrupos, de acordo com os caracteres considerados de maior importância pelos melhoristas. Após a divisão, a divergência seria avaliada dentro do subgrupo elite (mais importante para o melhorista), e entre este subgrupo e outros. O processo, além de auxiliar na interpretação dos acessos, permite considerável simplificação de dados de computação e promove eficiente sintetização de informação disponível. Os autores citam como exemplo de aplicação da metodologia, o agrupamento de 280 acessos de mandioca de Banco de Germoplasma da Embrapa (BAGM, Cruz das Almas – BA), conduzido por Pereira (1989) e acrescentam que as análises aglomerativas confirmaram a utilidade do processo e enfatizaram sua operação e eficiência.

## **2.12. Identificação de genes de resistência a doenças em feijão através de marcadores moleculares**

Dentre as doenças do feijoeiro, a antracnose, que é causada pelo fungo *Colletotrichum lindemuthianum*, é uma das mais importantes. Ela ocorre em várias regiões do Brasil, principalmente na época da safra, causando redução na produção e na qualidade dos grãos produzidos, podendo ocasionar perdas de até 100% em plantios com sementes infectadas (CHAVES, 1980).

O fungo *C. lindemuthianum* caracteriza-se por apresentar uma grande variabilidade, com mais de 25 raças identificadas no Brasil (FOUILLOUX, 1979).

Entre as principais fontes de resistência à antracnose do feijoeiro encontram-se as cultivares TO (fonte do gene *Co-4*) e AB 136 (fonte do gene *Co-6*) (BASSETT, 1996). Estas cultivares fazem parte das 12 diferenciadoras internacionais para antracnose. No Brasil, a cultivar AB 136 apresentou resistência a 35 patótipos identificados até o presente e a cultivar TO

apresentou resistência a 31 deles, sendo suscetível aos patótipos 320, 339, 343 e 453 (RAVA et al., 1994; THOMAZELLA et al., 2000).

A mancha angular, outra importante doença do feijão, cujo agente causal é o fungo *Phaeoisariopsis griseola* (Sacc.) Ferr. é de ocorrência generalizada nas regiões produtoras de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) do Brasil, podendo causar perdas que variam de 7 a 70% em lavouras de cultivares suscetíveis (SARTORATO e RAVA, 1994). *P. griseola* apresenta grande variabilidade, tendo já sido identificados mais de 50 patótipos na América Latina (PASTOR-CORRALES e JARA, 1995; NIETSCHE, 1997). Devido ao grande número de patótipos, torna-se difícil encontrar cultivares de feijoeiro com ampla resistência à doença.

Com relação à mancha angular, as linhagens AND-277, MAR-2, México 54, BAT 332 e Cornell 49-242 são importantes fontes de resistência. No estudo realizado por Nietzsche (1997), a cultivar AND 277, de origem andina, mostrou-se resistente a nove dos 13 patótipos de *P. griseola* testados, apresentando resistência aos patótipos mais freqüentemente encontrados no Estado de Minas Gerais. Carvalho et al. (1998) identificaram um gene de resistência à mancha angular em AND-277, que designaram de *Phg-1*.

Estudos sobre a herança da resistência à mancha angular são essenciais em programas de melhoramento. A resistência a essa doença é atribuída a um, dois ou três genes, sendo alguns deles dominantes e, outros, recessivos (SANTOS FILHO et al., 1976; SINGH e SAINI, 1980; SARTORATO et al., 1993). Trabalhos mais recentes sobre a resistência presente nos genótipos AND 277, Mar-2, México 54 e Cornell 49-242, quando cruzados com a cultivar suscetível Rudá, revelaram herança monogênica dominante nos quatro cruzamentos (CARVALHO et al., 1998; FERREIRA et al., 1999; SARTORATO et al., 1999, NIETSCHE et al., 1999).

O uso de marcadores moleculares para genes de resistência a doenças, como auxiliar no processo de melhoramento, requer a identificação prévia desses marcadores em cultivares de interesse. Marcadores moleculares para alguns locos de resistência à mancha angular já foram identificados. O marcador RAPD OPH13490C (CARVALHO et al., 1998) está associado ao loco de resistência presente em 'AND-277' que confere resistência ao patótipo 63.23 de *P. griseola*. Os marcadores SCAR (sequence characterized amplified

region) OPN02890C e RAPD OPAC142400C (SARTORATO et al., 1999) identificam os genes oriundos de 'México 54' que dão resistência ao patótipo 63.19 de *P. griseola*. O marcador OPE04500C (FERREIRA et al., 1999) está ligado ao loco de resistência da linhagem Mar-2 que confere resistência ao patótipo 63.39.

### 3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABADIE, T.; CORDEIRO, C.M.T.; ANDRADE, R.V. de; PARENTONI, S.N.; MAGALHÃES, J.R. **A coleção nuclear de germoplasma de milho para o Brasil**. Brasília: Embrapa Recursos genéticos e Biotecnologia, 2000. 37 p. (Embrapa recursos Genéticos e Biotecnologia. Boletim de Pesquisa, 8)

ABRASEM – Associação brasileira de produtores de sementes. Disponível em: <<http://www.abrasem.com.br/estatisticas/index.asp>>. Acesso em: 15 jan. 2006.

ABREU, A.F.B.; RAMALHO, M.A.P; GONÇALVES, F.M.A.; MENDONÇA, H.A. Utilização da produtividade de grãos na seleção para resistência ao *Colletotrichum lindemuthianum* no feijoeiro. **Revista Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.27, n.2, p.363-369. 2003.

ALFENAS, A.C. **Eletroforese de isoenzimas e proteínas afins: fundamentos e aplicações em plantas e microorganismos**. Viçosa: Ed. UFV, 574 p. 1998.

ALLARD, R.W. **Principles of plant breeding**. New York: J. Willey & Sons, 1999. 2 ed. 254 p.

ANDERSON, J.W.; SMITH B.M.; WASHNOCK C.S. Cardiovascular and renal benefits of dry bean and soybean intake. **American Journal Clinical and Nutritional**. 70 (Suppl): 464S-474S. 1999.

ARAYA, R.; MORA, F.; SHINGH, S.P. Fuentes de resistência a la Antracnosis y la mancha angular em frijol común na Costa Rica. **Agronomia Mesoamericana**, v.11, n.1, p.11-15, 2000.

ARUNACHALAN, V. Genetic distance in plant breeding. **Indian Journal of Genetics & Plant Breeding**, New Delhi, v.41, n.2, p.226-236, 1981.

BAI, Y.; MICHALS, T.E.; PAULS, P. Determination of genetic relationships among *Phaseolus vulgaris* populations in a conical cross from RAPD marker analyses. **Molecular Breeding**, Dordrecht, v.4, p.395-406, 1998.

BASSETT, M.J. List of genes - *Phaseolus vulgaris*. **Annual Report Bean Improvement Cooperative**, v.39, p.1-9, 1996.

BEEBE, S.E.; OCHOA, I.; SKROCH, P.; NIENHUIS, J.; TIVANG, J. Genetic diversity among common bean breeding lines developed for Central America. **Crop Science**, v.35, p.1178-1183, 1995.

BEEBE, S.J.; RENGIFO, E.G.; DUQUE, M.C.; TOHME, J. Diversity and Origin of Andean Landraces of Common Bean. **Crop Science**, n.41, p.854-862, 2001.

BEEBE, S. Temas actuales em mejoramiento genético del frijol; Programa del frijol; Cali, CIAT, 1989. 465p. (**CIAT. Documento de Trabalho, 47**).

BENIN, G.; CARVALHO, F.I.F.; OLIVEIRA, A.C. Comparações entre medidas de dissimilaridade e estatísticas multivariadas como critérios no direcionamento de hibridações em aveia. **Ciência Rural**, v.33, n.4, p.657-662, 2002.

BENNINK, M. Eat beans for good heath. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, v.48, p.1-5, 2005.

BONIERBALE, M.; BEEBE, S.; TOHME, J.; JONES, P. Molecular genetic techniques in relation to sampling strategies and the development of core collections. In: AYAD, W.G.; HODGKIN, T.; JARADAT, A.; RAO, V.R. (Eds.). **Molecular genetic techniques for plant genetic resources. Report of an IPGRI Workshop**, 9-11. October, 1995, Rome, Italy p.98-102, 1995.

BORÉM, A. **Melhoramento de Plantas**. Viçosa: UFV, 1997. 547p. ilustr.

BOUROCHE, J.M.; SAPORTA, G. **Análise de dados**. Tradução Marcus Pe. Rio de Janeiro. Ed. Zahar. 117 p. 1982.

BRASIL, Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Lei N. 9.456, de 25 de abril de 1997. Institui a Lei de Proteção de Cultivares, e dá outras providências. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 25 de abril de 1977. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br>>. Acesso em: 15 já. 2005.

BRONDANI, C. **Análise de RFLP da tolerância à toxidez do alumínio**. 1993. 78f. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1993.

CANCI, A.; VOGT, G.A.; CANCI, I.J. **A diversidade das espécies crioulas em Anchieta – SC. Diagnóstico, resultados de pesquisa e outros apontamentos para a conservação da agrobiodiversidade**. São Miguel do Oeste: McLee, 2004. 122 p.

CARNEIRO, J.C.S.; MINIM, V.P.R.; SOUZA JR, M.M. Perfil sensorial e aceitabilidade de cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.25, n.1, 2005. p.18-24.

CARVALHO, G.A.; PAULA JR, T.J.; ALZATE-MARIN, A.L.; NIETSCHKE, S.; BARROS, E.G.; MOREIRA, M.A. Herança da resistência da linhagem AND 277 de feijoeiro comum à raça 63.23 de *Phaeoisariopsis griseola* e identificação de marcador RAPD ligado ao gene de resistência. **Fitopatologia Brasileira**, v.23, p.482-485, 1998.

CASANÃS, F.; BOSCH, L.; PUJOLA, M.; SANCHEZ, E.; SORRIBAS, X.; BALDI, M.; NUEZ, F. Characteristics of a common bean landrace (*Phaseolus vulgaris* L.) of great culinary value and selection of a comercial imbred line. **Journal of the Science of Food a Agriculture**, v.79, p.693-696, 1999.

CASTINEIRAS, L.; ESQUIVEL, M.; LIDI, L.; HAMMER, K. Origin, Diversity and Utilization of the Cuban germoplasm of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Euphitica**, Wageningen, v.57, p.1-8, 1991.

CATTAN-TOUPANCE, I.; MICHALAKIS, Y.; NEEMA, C. Genetic struture of wild bean population in their South-Andean center of origin. **Theoretical and Applied Genetics**, v.96, p.844-851, 1998.

CENTRO INTERNACIONAL DE AGRICULTURA TROPICAL – CIAT. **Common bean improvement**. Cali, 2002. Disponível em: <<http://www.ciat.cgiar.org/beans/index.htm>>. Acesso em: 20 jan. 2006.

CENTRO INTERNACIONAL DE AGRICULTURA TROPICAL – CIAT/CGIAR. Disponível em: <<http://www.ciat.cgiar.org/ciatinfocus/agrobiodiversity.htm>>. Acesso em: 1 fev. 2006.

CENTRO INTERNACIONAL DE AGRICULTURA TROPICAL. **Lista descriptiva Del germoplasma de *Phaseolus* spp. II – materiales promissórios.** Cali, 1978. 90p.

CEOLIN, A.C.G. Determinação da divergência genética em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) por meio de caracteres morfoagronômicos e marcadores moleculares RAPD. 2003. 124f. Dissertação (Mestrado em Melhoramento Genético Vegetal) – Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2003.

CHAMBERS, G.K.; MACAVOY, E.S. Microsattelites: consensus and controversy. Comparative Biochemistry and Physiology. Part B, v.126. 2000. p.455-476.

CHAVES, G. **La antracnosis.** In: Swartz, H.P.; GALVES, G.E. Problemas de producción del frijol: enfermedades, insectos, limitaciones edáficas y climáticas de *Phaseolus vulgaris*. Cali, Colômbia: CIAT, 1980. p. 37-53.

CHIARARDIA, A.C.N.; GOMES, J.C. **Feijão: Química, nutrição e tecnologia.** Viçosa: Fundação Arthur Bernardes, 1997. 180p.

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

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

CRUZ, C.D.; PEREIRA, A.V.; VENCOSKY, R. A proposal for analysis of genetic divergence among germoplasm bank accessions. **Revista Brasileira de Genética**, Ribeirão Preto, v.14, n.4, p.991-9, 1991.

CRUZ, C.D.; REGAZZI, A.J. **Modelos Biométricos Aplicados ao Melhoramento Genético**. Viçosa: UFV, 1994. 390p.

CURI, P.R. Análise de agrupamento: métodos seqüenciais, aglomerativos e hierárquicos. **Ciência e Cultura**, São Paulo, v.35, n.10, p.1416-1429, 1983.

DIAS, L.A.S. Análises multidimensionais. In: ALFENAS, A.C. (ed.). **Eletroforese de isoenzimas e proteínas afins: Fundamentos e aplicação em plantas e microorganismos**. Viçosa: UFV, 1998. p. 401-475.

DUARTE, J.M.; SANTOS, J.B. dos; MELO, L.C. Genetic divergence among common bean cultivars from different races based on RAPD markers. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v.22, n.3, p.419-426, 1999.

DUDLEY, J.W. Comparison of genetic distance estimators using molecular marker data. In: SYMPOSIUM ANALYSIS OF MOLECULAR DATA, Corvallis Oregon. Proceedings Corvallis, Oregon, **American Society for Horticultural Science**, Crop Science Society of America, 1994. p. 3-7.

EMIGDYO, B.M.; ANTUNES, I.F.; CHOER, E.; NEDEL, J.L. Eficiência de coeficientes de similaridade em genótipos de feijão mediante marcadores RAPD. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.38, p.243-250, 2003.

EMYGDIO, B.M.; ANTUNES, I.F.; NEDEL, J.L. Caracterização de Land Races e cultivares comerciais de feijão por meio de testes de vigor das sementes. **Resumos** In: Congresso Nacional de Pesquisa de Feijão. 7. 2002: Viçosa, MG. 492- 493 p.

ENDER, M.; KELLY, J.D. Identification of QTL associated with white mold resistance in common bean. **Crop science**, Madison, v. 45, p.2482-2490, 2005.

ENDER, M.; GUIDOLIN, A.F; SANGOI, L; SANTO, J.P; TSAI, S.M; LECH, V.A.; DUARTE, I.A. Coleta e estudo da variabilidade genética de genótipos de feijão cultivadas no Planalto Catarinense. **Resumos** In: Reunião Técnica Catarinense de Milho e Feijão; 1. 1998, Chapecó: Epagri, 1998. p. 83-85.

FALCONER, D.S. **Introdução à genética quantitativa**. Traduzido por SILVA, M.A.; SILVA, J.C. Viçosa: UFV, 1987. 279p., ilustr.

FALCONER, D.S.; MACKAY, J.F.C. **Introduction to Quantitative Genetics**. 4.ed. Malaysia: Lonman, 1996, 464p.

FANCELLI, A.L. Fenologia e ecofisiologia do feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.). **Resumos** In. III Reunião Técnica Catarinense de Milho e Feijão. Chapecó, SC: Epagri- CPPP. p. 11-22, 2001.

FAO. Base de Dados estatísticos. Disponível em: < <http://faostat.fao.org>>. Acesso em: 3 set. 2005:

FAO. Plan de accion mundial para la conservación y utilización sostenible de los recursos fitogenéticos para la alimentación y la agricultura. Organización de las Naciones Unidas para La Agricultura y la Alimentacion, Itália. 1996. 64p.

FERRAO, M.A.G.; VIEIRA, C.; CRUZ, C.D. Genetic divergence on Common bean under tropical winter conditions. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.37, n.8, p.1089-1098. 2002.

FERREIRA, C.F.; BORÉM, A.; CARVALHO, G.A.; NIETSCH, S.; PAULA JR, T.J.; BARROS, E.G.; MOREIRA, M.A. Identificação de marcador RAPD ligado ao gene de resistência à raça 63.39 da mancha angular do feijoeiro. **Bragantia**, v.58, p.247-252, 1999.

FERREIRA, D.F.; OLIVEIRA, A.C.; SANTOS, M.X.; RAMALHO, M.A.P. Métodos de avaliação da divergência genética em milho e suas relações com os cruzamentos dialélicos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.30, n.9, p.1189-1194, 1995.

FERREIRA, D.F. **Métodos de avaliação da divergência genética em milho e suas relações com os cruzamentos dialélicos**. 1993. 72f. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1993.

FERREIRA, M.E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares na análise genética**. Brasília: Embrapa-Cenargen, 1995, 220p.

FONSECA, J.R.; SILVA, H.T. Identificação de duplicidades de acessos de feijão por meio de técnicas multivariadas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.34, n.3, p.409-414, 1999.

FONSECA, J.R. **Emprego da análise multivariada na caracterização de germoplasma de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.)**. 1993. 123f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura de Lavras, Lavras, 1993.

FONSECA, J.R.; VIEIRA, E.H.N.; SILVA, H.T; COSTA, J.G.C.; RAVA, C.A. **Resumos**. In: Congresso de Pesquisa de Feijão, 2002. p. 336-37.

FOUILLOUX, G. New races of bean anthracnose and consequences on our breeding programs. In: International Symposium on Diseases of Tropical Food Crops. Louvain la Neuve, 1978. **Proceedings...** Louvain la Neuve: Universite Catholique de Louvain, 1979. p. 221-235.

FRANCO, M.C.; CASSINI, S.T.A.; OLIVEIRA, V.R.; TSAI, S.M. Caracterização da diversidade genética em feijão por meio de marcadores RAPD. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.36, p.381-385, 2001.

GARCIA, E.H.; PEÑA-VALDIVIA, C.B.; AGUIRRE, J.R.R.; MURUGA, J.S.M. Morphological and agronomic traits of a wild population and an improved cultivar of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Annals of Botany**, v.79, p. 207-213, 1997.

GEPS, P.; BLISS, F.A. F<sub>1</sub> hybrid weakness in the common bean: differential geographic origin suggests two gene pools in cultivated bean germoplasm. **J. Heredit.**, v.76, p.447-450, 1988.

GHADERI, A.; ADAMS, M.W.; NASSIB, A.M. Relationship between genetic distance and heterosis for yield and morphological traits in dry edible bean and fava bean. **Crop Science**, Madison, v.14, n.1, p.24-27, 1984.

HERNANDES, J.C. Descriptores de los recursos genéticos vegetales. Buenos Aires, Universidade de Buenos Aires, 4 p. (Trabalho apresentado no Curso Internacional sobre Recursos Genéticos Vegetales), 1998.

IADEROZA, M.; SALES, A.M.; BALDINI, V.L.S.; SARTORI, M.R.; FERREIRA, V. L.P. Polyphenol oxidase activity and alterations in colour and levels of condensed tannins during storage of new bean (*Phaseolus*) cultivars. **Coletânea do Instituto de Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.19, n.2, p.154-164, 1989.

IBGE. **Base de Dados Agregados** – SIDRA. Disponível em: <<http://ibge.gov.br>>. Acesso em: 1 set. 9 2005.

INSTITUTO CEPA/SC – **Síntese anual da agricultura de Santa Catarina**. v.1-1976 – 2003. Florianópolis: Instituto Cepa/SC, 2004. p. 65-79.

KALIA, N.R.; LAL, M.; KALIA, R. Genetic divergence in common bean. **Indian J. Agric. Res.**, v. 35, p.139-140, 2001.

KAYA, Z.; NEALE, D.B. Utility of random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers for linkage mapping in Turkish red pine (*Pinus brutia* Ten.). **Silvae Genetica**, v.44, n.2-3, p.110-116, 1995.

KUREK, A.J.; CARVALHO, F.I.F.; ASSMANN, I.C.; CRUZ, P.J. Capacidade combinatória como critério de eficiência na seleção de genitores em feijoeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.36, n.4, p.645-651, 2001.

LOARCE, Y.; GALLEGOS, R.; FERRER, E. A comparative analysis of the genetic relationship between rye cultivars using RFLP and RAPD markers. **Euphytica**, Wageningen, v.88, p.107-115, 1996.

LONDERO, P.M.G.; RIBEIRO, N.D.; FILHO, A.C.; RODRIGUES, J.A.; POERSCH, N.L.; TRENTIN, M. Variabilidade genética para teores de fibra e rendimento de grãos em populações de feijão. **Resumos IN: Congresso Nacional de Pesquisa de Feijão (8.: 2005:Goiânia, GO)**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2005. p. 593-596.

- MACHADO, C.F. **Procedimentos para escolha de genitores de feijão**. 1999. 118f. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1999.
- MALUF, W.R.; FERREIRA, P.E. Análise multivariada da divergência genética em feijão-vagem (*Phaseolus vulgaris* L.). **Horticultura Brasileira**, Brasília v.1, n.2, p.31-34, 1983.
- MILACH, S.C.K; *Marcadores de DNA - Aplicações no melhoramento de plantas*. In: **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**. v.5, 2000.
- MIRANDA FILHO, J.B. de.; GERALDI, I.O. An adapted model for the analysis of partial diallel crosses. **Revista Brasileira de Genética**, Ribeirão Preto, v.7, p.677-688, 1984.
- MORAGHAN, J.T.; GRAFTON, K. Genetic diversity and mineral composition of common bean seed. **Journal Science Food Agricultural**, n.81. p.404-408. 2001.
- NELSON, C.D.; KUBISIAK, T.L.; STINE, M.; NANCE, W.L. A genetic linkage map of longleaf pine (*Pinus palustris* Mill) based on random amplified polymorphic DNAs. **Journal of Heredity**, v.85, n.6, p.433-439, 1994.
- NIETSCHKE, S. **Identificação de raças de *Phaeoisariopsis griseola* e determinação de fontes de resistência em *Phaseolus vulgaris***. 1997. 47f. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1997.
- NIETSCHKE, S.; BORÉM, A.; CAIXETA, E.T.; BARROS, E.V.; MOREIRA, M.A. Marcadores RAPD e SCAR ligados ao gene de resistência à mancha angular do feijoeiro. **Genetics and Molecular Biology**, v.22, p.660, 1999. (Supplement).
- OSBORN, T.C. Genetic control of bean seed protein. CRC. Critical Review. **Plant Science**, v.7, p.93-116, 1988.

OSPINA, O.H.F. Morfologia de la planta de frijol comum (*Phaseolus vulgaris* L.) 2.ed. Cali, CIAT, 1982. 50p. (Guia de estúdio, Série 04SB-09.01).

OSPINA, O.H.F. **Diversidad genética de las especies cultivadas del genero *Phaseolus***. Cali, CIAT, 1980. 52p. (Guia de estúdio, Série 04SB-09.02).

OSUNA, J.A. Conservação e utilização dos recursos genéticos em plantas, v.8. p. 46-48, 1985.

PASTOR-CORRALES, M.A.; JARA, C.E. La evolución de *Phaeoisariopsis griseola* com el frijol comum en America Latina. **Fitopatologia Colombiana**, v.19, p.15-24. 1995.

PATERNIANI, E. Diversidade genética em plantas cultivadas. In: ENCONTRO SOBRE RECURSOS GENÉTICOS, 1., 1988, Jaboticabal. **Anais...Jaboticabal: FCAV**, 1988. p. 75-76.

PEREIRA, A.V. **Utilização de análise multivariada na caracterização de germoplasma de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz)**. 1989. 180f. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1989.

PEREIRA, H.S.; SANTOS, J.B. Utilização de informações moleculares e genotípicas na escolha de populações segregantes de feijoeiro comum. **Resumos** In: Congresso Nacional de Pesquisa de Feijão (v.8. 2005:Goiânia, GO). Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e feijão, p. 575-578. 2005.

PEREIRA, J.J.; CRUZ, C.D. Comparação de métodos de agrupamento para o estudo da diversidade genética de cultivares de arroz. **Revista Ceres**, v.50, p.41-60, 2003.

QUESADA, M.P.; CENIS, J.L. Use of random amplified polymorphic DNA (RAPD-PCR) in the characterization of wine yeasts. **Am. J. Enol. Vitic.**, v.46, n.2, p.204-208, 1995.

RAMALHO, M.A.P.; SANTOS, J.B. Melhoramento de feijão. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.8, n.90, p.9-16,1982.

RAMALHO, M.A.P.; ABREU, A. de F.B.; CARNEIRO, J.E. de S. Cultivares. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.25, n.223, p.21-32, 2004a.

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

RAMALHO, M.A.P; SANTOS, J.B.; PINTO, C.B.P. Genética na agropecuária. 3 ed. rev. Ed. UFLA. 472 p. 2004b.

RAVA, C.A.; PURCHIO, A.; SARTORATO, A. Caracterização de patótipos de *Colletotrichum lindemuthianum* que ocorrem em algumas regiões produtoras de feijoeiro comum. **Fitopatologia Brasileira**, v.19, p.167-172, 1994.

RIBEIRO, N.; STORCK, L. Escolha de genitores de feijoeiro por meio da dissimilaridade genética. **Revista Brasileira de Agrociência**, v.8, n.2, p.89-95, 2002.

RIOS, A.O; ABREU, C.M.P.; CORREA, A.D. Effect of storage and harvest conditions on some physical, chemical and nutritious properties of three bean cultivars (*Phaseolus vulgaris*, L.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.23, p.39-45. 2003.

RODIÑO, A.P.; SANTALLA, M.; MONTERO, I.; CASQUERO, P.A.; DE RON, A.M. Diversity of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) germplasma from Portugal. **Genetic Resouces and Crop Evolution**, v.48, p.409-417, 2001.

RODRIGUES, L.S.; ANTUNES, I.F.; TEIXEIRA, M.G.; SILVA, J.B. Divergência genética entre cultivares locais e cultivares melhoradas de feijão. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v.37, n.9, p.1275-1284, 2002.

ROYER, M.R.; GONÇALVES-VIDIGAL, M.C.G.; SCAPIM, C.A.A. Hibridação natural em feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.) em Maringá, Paraná: In: REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO, 6., Salvador, BA. **Resumos Expandidos...** Santo Antônio de Goiás: Embrapa, Arroz e Feijão, 1999. 880 p. (Doc. 99).

SANTOS FILHO, H.P.; FERRAZ, S.; VIEIRA, C. Resistência à mancha angular (*Isariopsis griseola* Sacc.) no feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). **Revista Ceres** v.23, p.226-230. 1976.

SANTOS, J.B. Marcadores de DNA no melhoramento do feijoeiro. Disponível em: <<http://www.cnpaf.embrapa.br/conafe/pdf/palestra10.pdf>>. Acesso em: 08 fev. 2006.

SANTOS, J.B.; VENCOSKY, R. Correlação fenotípica e genética entre alguns caracteres agrônômicos do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*, L.). **Ciência e Prática**, São Paulo, v.10, n.3, p.265-272, 1986.

SANTOS, J.B. dos; NIENHUIS, J.; SKROCH, P.; TIVANG, J.; SLOCUM, M.K. Comparison of RFLP and RAPD molecular markers in estimating genetic distance among *Brassica oleracea* L. lines. In: INTERNACIONAL CROP SCIENCE CONGRESS, 1, Ames, 1992. **Abstracts...** Ames, Iowa, 1992. p.62.

SARTORATO, A.; RAVA, C.A. **Mancha angular**. In: SARTORATO, A.; RAVA, C.A. (Eds.). Principais doenças do feijoeiro comum e seu controle. Brasília: EMBRAPA, 1994. pp. 41-68.

SARTORATO, A.; NIETSCHKE, S.; BARROS, E.G.; MOREIRA, M.A. SCAR markers linked to angular leaf spot resistance gene in common bean. **Annual Report Bean Improvement Cooperative**, v.42, p.21-22,1999.

SARTORATO, A.; ZIMMERMANN, M.J.O.; RAVA, C.A.; CARNEIRO, J.E.S. Inheritance of dry bean resistance to *Isariopsis griseola*. **Summa Phytopathologica**, v.19, p.30, 1993.

SCHOONHOVEN, A.V.; VOYSEST, O. Common bean: research for crop improvement. Cali: CIAT; **CAB Internacional**, 1991. 980 p.

SCHWARTZ, H.F.; PASTOR-CORRALES, M.A. Bean production problems in the tropics. 2<sup>nd</sup> ed. CIAT, Cali, Colombia. 1989.

SILVA, H.T.; FONSECA, J.R. Banco ativo de germoplasma de feijão. IN: Congresso Nacional de Pesquisa de feijão. **Anais...**Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2005. p.1131-1135.

SILVA, V.R.; IACHAN, A. Proteínas de Variedades Brasileiras de Feijão (*P. vulgaris*). I- Quantificação e Fracionamento das Proteínas. **Revista Brasileira de Tecnologia**, v.6, p.133-141, 1975.

SINGH, A.K.; SAINI, S.S. Inheritance of resistance to angular leaf spot (*Isariopsis griseola* Sacc.) in french bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Euphytica**, v.29, p.175-176, 1980.

SINGH, S. Patterns of variation in cultivated common bean (*Phaseolus vulgaris*, Fabaceae). **Economic Botany**, v.43, n.1, p.39-57, 1989.

SINGH, S.P.; NODARI, R.; GEPS, P. Genetic diversity in cultivated common bean: I. Allozymas. **Crop Science**, Madison, v.31. p.19-23, 1991.

SNEATH, P.H.; SOKAL, R.R. **Numerical taxonomy: The principles and practice of numerical taxonomy**. San Francisco: W.H. Freeman, 1973. 573 p.

SOUZA, T.L.P.O. de; RAGAGNIN, V.A.; MELO, C.L.P. de; ARRUDA, K.M.A.; CARNEIRO, J.E. de S.; MOREIRA, M.A.; BARROS, E.G. de. Phenotypic and molecular characterization of cultivar BRSMG-Talismã regarding the principal common bean pathogens. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Viçosa, v.5, n.2, p.247-252, 2005.

TEIXEIRA, F.F. **Mapeamentos QTLs para caracteres do feijoeiro por meio de microssatélites**. 2004. 189f. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2004.

TESTA, V.W.; NADAL, R. O feijão e a pequena propriedade diversificada do Oeste Catarinense. **Resumos** In: REUNIÃO SUL-BRASILEIRA DE PESQUISA DE FEIJÃO, 1. 1995, Chapecó, SC. 1. Reunião Sul-Brasileira de Pesquisa de Feijão. Florianópolis: Epagri.1995.109p.

THOMAZELLA, C.; GONÇALVES-VIDIGAL, M.C.; VIDA, J.B.; VIDIGAL FILHO, P.S.; RIMOLDI, F. Identification of *Colletotrichum lindemuthianum* races in *Phaseolus vulgaris* L. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, v.43, p.82-83, 2000.

THUNG, M.; SOARES, D.M.; AIDAR, H.; DEL PELOSO, M.J.; OLIVEIRA, F.R. Feijão comum de tipos comerciais internacionais: nova opção para agricultura familiar e empresarial. IN: REUNIÃO TÉCNICA CATARINENSE DE MILHO E FEIJÃO, 5.,. **Resumos expandidos...** Chapecó, SC: Epagri/Cepaf, p.10-15. 2005.

VALENTIN, J.L. **Ecologia numérica: uma introdução á análise multivariada de dados ecológicos**. Rio de janeiro: Interciência, 2000. 117 p.

VASCONCELOS, M.J.V.; BARROS, E.G. de; MOREIRA, M.A.; VIEIRA, C. Genetic diversity of the common bean *Phaseolus vulgaris* L. determined by DNA based molecular markers. **Revista Brasileira de Genética**, Ribeirão Preto, v.19, p.447-451, 1996.

VENCOVSKY, R.; BARRIGA, P. **Genética biométrica no fitomelhoramento**. Ribeirão Preto:Sociedade Brasileira de Genética, 1992. 496 p.

VICTORIA, F.R.B.; TEIXEIRA, J. Necessidades hídricas das culturas do milho e feijão em Chapecó/SC. **Resumos** In: Reunião Técnica Catarinense de Milho e Feijão; 1. Chapecó: Epagri, 1998. p.63- 68.

VIEIRA, C. **Cultura do Feijão**. Viçosa –MG.Imprensa Universitária. 1978. 146 p.

VIEIRA, C.; PAULA JÚNIOR, T.J. de; BORÉM, A. (Ed.). **Feijão: aspectos gerais e cultura no Estado de Minas**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 1998. 596 p.

VILARINHOS, A.D.; GONÇALVES-VIDIGAL, M.C.; DE BARROS, E.G.; PAULA-JÚNIOR, T.J.; CRUZ, C.D.; MOREIRA, M.A. RAPD-PCR Characterization of varieties of the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) used

to identify races of anthracnose fungus (*Colletotrichum lindemuthianum*). **Brazilian J. Genetics**, v.18, p.275-280, 1995.

VILHORDO, B.W.; MULLER, L. **Correlação entre características botânicas e classificação comercial em cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.)**. Porto Alegre, Instituto de Pesquisas Agronômicas, 1981. 62 p. (IPAGRO. Boletim Técnico, 8).

VILHORDO, B.W.; BURIN, M.E.; GANFOLDI, V.H. **Morfologia**. In: ZIMMERMANN, M.J.O.; ROCHA, M.; YAMADA, T. Cultura do feijoeiro: fatores que afetam a produtividade. Piracicaba, Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fostato, 1988. 589p.

WELSH, J.; McCLELLAND, M. Fingerprint genomes using PCR with arbitrary primers. **Nucl. Acid Res.**, v.18, n.24, p.7213-7218, 1990.

WHITE, J.; KORNGAN, J.; CASTILLO, C.H.; MOLANO, C. TEJADA, G. Effect of growth habit on yield of large-seeded bush cultivars of common bean. **Field Crops. Res.**, v.29, p.151-161, 1991.

WILCHES, O.M. Evaluación de treinta y cuatro variedades de mani mediante técnicas multivariadas. **Revista ICA, Turrialba**, v.18, n.1, p.67-76, 1983.

WILLIAMS, J.G.K.; KUBELIK, A.R.; LIAK, K.J. et al. DNA polymorphism amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. **Nucleic Acids Research.**, v.18, n.22, p.6531-6535, 1990.

WINKLER, E.I.G. Avaliação e preservação de germoplasma nativo de milho. Embrapa, n.44, 1986. 3p. (Comunidade Técnico, 44).

# **CAPÍTULO 1: DIVERGÊNCIA GENÉTICA ENTRE CULTIVARES DE FEIJÃO TRADICIONAL (*Phaseolus vulgaris* L.) POR MEIO DE CARACTERES MORFO-AGRONÔMICOS E NUTRICIONAIS**

## **RESUMO**

A existência de variabilidade genética em programas de hibridação do feijão, como em qualquer outra espécie, é essencial para que haja populações segregantes em vários caracteres, ampliando as possibilidades de seleção de cultivares superiores. O presente estudo teve como objetivo avaliar a divergência genética em 45 cultivares tradicionais de feijão coletados no Estado de Santa Catarina, utilizando-se 11 caracteres morfo-agronômicos e nutricionais. O experimento foi conduzido no Centro de Pesquisa da EPAGRI, em Chapecó, Estado de Santa Catarina. O delineamento experimental utilizado foi o de blocos ao acaso com três repetições. As seguintes características foram avaliadas: número de dias para a maturação, produtividade, massa de 500 grãos, resistência à bacteriose, resistência à antracnose, comprimento longitudinal do folíolo, altura de planta, número médio de vagens por planta, número médio de sementes por planta, teor de proteína e teor de fibra bruta. Os dados obtidos em cada variável foram submetidos à análise de variância, considerando-se o efeito da cultivar como fixo. A análise multivariada foi usada para avaliar a divergência genética entre as cultivares, utilizando-se análises por componentes principais e técnicas de agrupamentos por meio do método de Tocher e UPGMA, com base na Distância Generalizada de Mahalanobis ( $D_{ii}^2$ ). A análise de variância revelou diferença significativa em nível de 1 % de probabilidade para quase todas as características avaliadas. Este fato indica que essas cultivares, apesar de serem de um mesmo grupo comercial apresentam variabilidade em relação a vários caracteres de interesse. A maior divergência foi observada entre cultivares do Grupo VII, em especial a cultivar 5 que se apresentou mais divergente em relação aos demais. Portanto, para compor programas de hibridação entre este grupo de materiais, sugerem-se cruzamentos entre as cultivares do Grupo II, em especial CFE 25, CFE 100 e FT Nobre e aqueles do Grupo VII, destacando-se o acesso CFE 22. A cultivar Diamante Negro pode ser utilizada em cruzamentos com as cultivares do

Grupo II e VII que se destacaram por serem as mais divergentes e possuírem uma das melhores médias em produtividade.

**Palavras chave:** divergência genética, feijão tradicional, morfoagronômicos, nutricional.

## ABSTRACT

The existence of genetic variability in hybridization programs of bean, as in any other species, is essential in order to have segregant populations, in several characters, amplifying the possibilities of selecting of superior genotypes. The present study had as objective the evaluation of the genetic divergence in 45 traditional cultivars of bean collected in Santa Catarina State, using 11 morphoagronomic and nutritional. The experiment was carried out at Centro de Pesquisa da EPAGRI, in Chapecó, Santa Catarina State. The experimental design used was the one of randomized blocks, with three replications. The following characteristics were evaluated: number of days for maturation, productivity, mass of 500 seeds, bacteriose's resistance, resistance to anthracnose, foliole longitudinal length, plant height, mean number of pods per plant, mean number of seeds per plant, protein percentage and brute fiber percentage. The data obtained for each characteristic were submitted to variance analysis considering the effect of the cultivar as fixed. The multivariate analysis was used to evaluate the genetic divergence among the genotypes utilizing analyses by principal components and clustering techniques through Tocher's method and UPGMA, based on Mahalanobis ( $D_{ii}^2$ ) Generalized Distance . The variance analysis revealed significant difference of 1 % of probability for almost all evaluated characteristics. This fact indicates that these genotypes, even though belong to the same commercial groups, presented variability in relation to several characters of interested. The highest divergence was observed among cultivars of Group VII, especially genotype 5, which presented itself as the most divergent in relation to the others. Therefore, in order to compose hybridization programs among this group of materials, it is suggested crossings among genotypes of Group II, especially CFE 25, CFE 100 and FT Nobre, and those of Group VII, pointing out the CFE 22 access. The cultivar Diamante Negro could be used in crossings with the cultivars from Group II and VII that pointed out, since they were the most divergent and possess one of the best productivity mean.

**Key words:** genetic divergence, land race, common bean, morphoagronomic, nutritional.

## 1. INTRODUÇÃO

O feijão, ao que tudo indica, tem sua origem na América Central e há dois Centros principais de domesticação: o Mesoamericano e o Andino. No Brasil, é provável que o feijão já existisse presente antes de sua descoberta. Há relatos contudo, que foi introduzido por imigrantes europeus há pouco tempo após 1500.

Com relação aos trabalhos de melhoramento genético em feijão, iniciaram em 1930, no Instituto Agrônomo de Campinas. Quase simultaneamente, os trabalhos começaram na Universidade federal de Viçosa. Em Santa Catarina, informações relatam que os primeiros trabalhos de introdução e avaliação de linhagens começaram em 1974 com a criação da Embrapa e Empasc (RAMALHO, 2005).

O cultivo de feijão no Brasil predomina em pequenas propriedades em regime de subsistência, por sua importância de destaque na questão social, na absorção de mão-de-obra agrícola, especialmente a mão-de-obra familiar. Neste sistema de cultivo, a tecnologia empregada é baixa; a maioria dos agricultores utiliza os grãos como semente, sendo que a taxa de utilização de sementes no Brasil não ultrapassa a 15% (ABRASEM, 2006).

No entanto, se por um lado este sistema de utilização de material genético local contribui para a produtividade baixa, por outro lado é uma excelente fonte de germoplasma. O sucessivo cultivo de um mesmo material genético aumenta a chance para a ocorrência de mutação e, caso esta seja vantajosa, pode ocorrer seleção por parte dos agricultores ou mesmo natural.

A busca constante por maior produtividade e melhor qualidade e padronização dos produtos vegetais, a seleção natural e do homem, a expansão da área de plantio, bem como a ocorrência de estiagens prolongadas (VICTORIA e TEIXEIRA, 1998), resulta na diminuição da variabilidade genética acumulada ao longo dos anos (ENDER et. al., 1998). Para contrabalançar esta perda de material genético, é de vital importância conservá-los e constituir coleções de germoplasma para benefício das gerações presentes e futuras. O aproveitamento dos recursos genéticos locais contribui para tornar os agroecossistemas mais equilibrados, pois tais cultivares encontram-se adaptados às condições edafoclimáticas da região em uso.

Diante destes fatos, trabalhos foram feitos no sentido de conhecer a variabilidade genética e o seu potencial para utilização na pesquisa, que é fundamental no desenvolvimento da cultura do feijão nas regiões de cultivo.

Estudos de características morfológicas, agronômicas e nutricionais no feijão (*Phaseolus vulgaris* L.), em especial do grupo preto, tornam-se muito importante em função de que em determinadas regiões do Brasil, como no Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Sul e Leste do Paraná, Rio de Janeiro e Sudeste de Minas Gerais, este tipo de grão comercial apresenta uma preferência de consumo (CARNEIRO, 2005).

Existem duas maneiras de se inferir a diversidade genética; a primeira de natureza quantitativa e a segunda de natureza preditiva. Como de natureza quantitativa citam-se as análises dialélicas e de natureza preditiva, aquelas que têm por base as diferenças agronômicas, morfológicas e de qualidade nutricional, estimadas por alguma medida de dissimilaridade que irá expressar o grau de diversidade genética entre os genitores (CRUZ e CARNEIRO, 2003).

O estudo de dissimilaridade genética é de grande importância em programas de melhoramento, pois fornecem parâmetros para a identificação de genitores que, quando cruzados, possibilitem maior efeito heterótico na progênie e maior probabilidade de gerar genótipos superiores nas gerações segregantes (RIBEIRO e STORCK, 2002; CRUZ e CARNEIRO, 2003). Além disso, estudos de divergência genética, utilizando distância generalizada de Mahalanobis e técnicas de agrupamento de Tocher, possibilitam o descarte, tanto de descritores como de acessos em duplicatas (FONSECA e SILVA, 1999).

Sendo assim, os objetivos deste trabalho foram caracterizar a presença da divergência genética em 45 cultivares de feijão do grupo comercial Preto, por meio de técnicas multivariadas, baseadas em caracteres morfológicos, agronômicos e nutricionais, de forma a identificar possíveis duplicatas nos acessos, avaliar o desempenho “per se” destas cultivares, bem como prever cruzamentos para um programa de melhoramento de feijão envolvendo hibridações de feijão do grupo comercial Preto.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1. Material genético utilizado

As cultivares utilizadas neste trabalho foram coletadas no Estado de Santa Catarina nos últimos 10 anos pela EPAGRI - Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural do Estado de Santa Catarina. As cultivares avaliadas estão listadas na Quadro 1, sendo que a grande maioria das amostras coletadas não apresentava denominação específica.

O germoplasma de feijoeiro do Grupo comercial Preto foi avaliado em dois experimentos, conforme descritos a seguir:

**Experimento 1** - Neste experimento foram avaliadas 21 cultivares tradicionais de feijão do grupo preto, incluindo-se três testemunhas constituídas de cultivares incluídas no sistema de avaliação de cultivares para o Estado de Santa Catarina (EPAGRI, 2004) e utilizadas em plantio comercial no Estado, quais sejam: FT- Nobre, Diamante Negro e Empasc 201.

**Experimento 2** – No segundo experimento, outras 21 cultivares tradicionais do grupo de feijão preto também foram avaliadas, incluindo-se as mesmas testemunhas do experimento 1.

**Testemunhas:** a) FT Nobre: é uma cultivar proveniente da FT Pesquisa e Sementes. Possui hábito de crescimento indeterminado tipo II, com grãos pequenos, tegumento preto, susceptível à maioria das raças do fungo causador da antracnose, *Colletotrichum lindemuthianum*. Apresenta ciclo de 90 dias, sendo uma das cultivares mais utilizada para cultivo comercial no Sul do Brasil.  
b) Diamante Negro: é uma cultivar proveniente da Embrapa - Arroz-Feijão, possui hábito de crescimento indeterminado tipo II, com grãos pretos pequenos .

EMPASC 201: é um cultivar proveniente da EPAGRI – Empresa de Pesquisa e Extensão Rural de Santa Catarina, possuindo hábito de crescimento indeterminado tipo II, grãos com coloração de tegumento preto, resistente a algumas raças de antracnose, ciclo normal.

Quadro 1 – Relação das cultivares tradicionais de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.), com número de ordem e código, utilizadas no presente estudo

Número	Cultivar/código	Número	Cultivar/código
<b>Experimento 1</b>			
1	CFE 02 – FC 2017	12	CFE 76 – FC 149
2	CFE 07 – FC 2053	13	CFE 77 – FC 124
3	CFE 08 – FC 2036	14	CFE 79 – manteiga
4	CFE 18 – FC 2044	15	CFE 80 – FC 155
5	CFE 22 – FC 2028	16	CFE 82 – manteiga
6	CFE 25 – FC 2026	17	CFE 83 – FC 129
7	CFE 29 – FC 2062	18	CFE 84 – FC 16
8	CFE 34 – FC 2048	19	CFE 86 – FC 94
9	CFE 61 – FC 2041	20	CFE 87 – FC 135
10	CFE 74 – FC 154	21	CFE 89 – FC 1166
11	CFE 75 – FC 1158		
<b>Experimento 2</b>			
22	CFE 117 – FC 156	33	CFE 129 – FC 137
23	CFE 118 – FC 177	34	CFE 100 – FC 113
24	CFE 115 – Bolinha	35	CFE 102–FC 1163–Topixaba
25	CFE 110 – FC 139 (opaco).	36	CFE 103 – FC 87
26	CFE 108 – Turrialba	37	CFE 106 – FC 61
27	CFE 92 – FC 178	38	CFE 109 – FC 139
28	CFE 93–CopinhaFC 1165.	39	CFE 111 – FC 38
29	CFE 94 – FC 93	40	CFE 112 – FC 170
30	CFE 95 – FC 109	41	CFE 113 – Taquara FC 1161
31	CFE 96 – FC 179	42	CFE 116 – FC 164
32	CFE 97 – FC 133		
<b>Testemunhas</b>			
43	FT Nobre	45	EMPASC 201
44	Diamante Negro		

## 2.2. Local e época de semeadura

Os ensaios foram conduzidos no Município de Chapecó, situado na região Oeste de Santa Catarina, a 27° 07' de latitude S e 52° 37' de longitude W, em altitude de 679 m. Os experimentos foram conduzidos em três anos agrícolas: safra 2002/2003, safrinha 2003 e safrinha 2004. A época safra em Santa Catarina caracteriza-se pela semeadura em setembro e colheita em final

de dezembro, início de janeiro. Na época safrinha, a semeadura é realizada do dia 20 de janeiro até primeira quinzena de fevereiro (EPAGRI, 2004). Os caracteres morfológicos, agronômicos e qualidade tecnológica (11 características) foram avaliados em plantas e sementes na época de cultivo safrinha de 2004.

### 2.3. Solo e clima

O solo, no qual foi implantado o experimento, é classificado como Vermelho distroférico típico (Embrapa, 1999). O sistema adotado foi plantio direto sobre área anteriormente cultivada com aveia. O clima da região Oeste do Estado de Santa Catarina, segundo classificação Köppen, é do tipo CFA (clima subtropical úmido). Os dados climáticos no período de 2003, 2004 e 2005, registrados na Estação Meteorológica de Chapecó – SC podem ser observados na Figura 1.

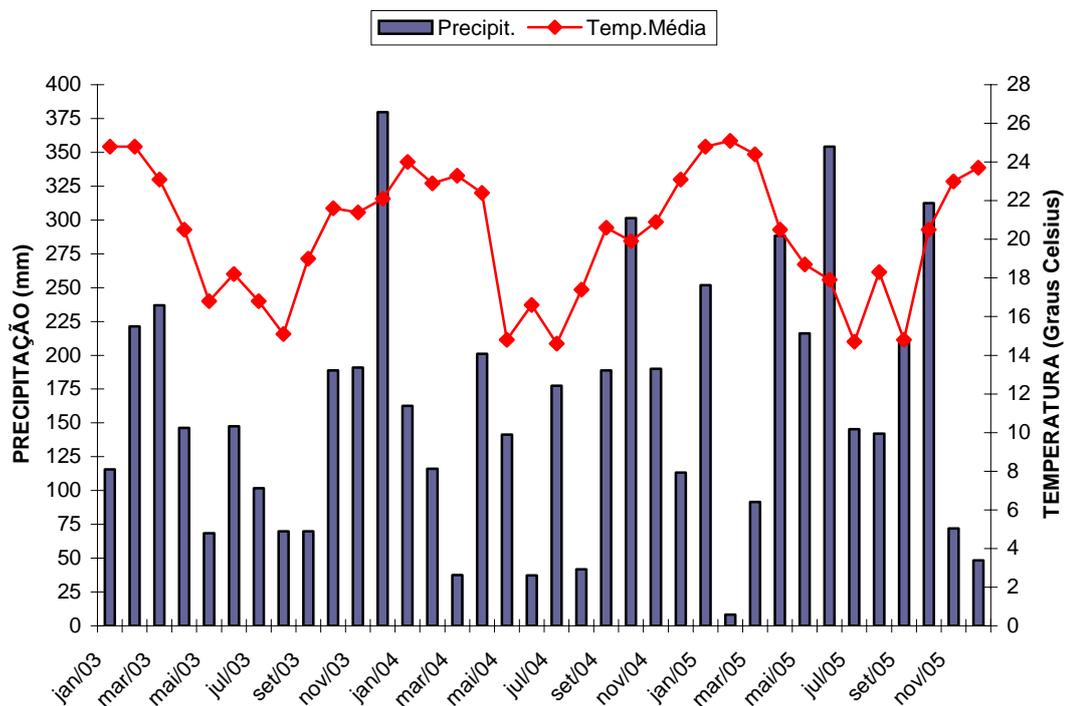


Figura 1 – Valores meios mensais de temperatura e precipitação pluvial registrados na Estação Meteorológica de Chapecó – SC, durante os anos de 2003, 2004 e 2005.

## 2.4. Implantação e Manejo dos experimentos

A adubação de base e de cobertura foi realizada de acordo com a análise de solo. Constatou-se de 200 kg ha<sup>-1</sup> do fertilizante 10-20-20 (N, P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> e K<sub>2</sub>O) na semeadura, e de 200 kg ha<sup>-1</sup> de nitrato de amônio (66 kg.ha<sup>-1</sup>) em cobertura no estágio V4, quando a planta possuía três folhas trifoliadas completamente distendidas.

Para o controle de plantas daninhas, foi aplicado o herbicida pós-emergente Robust, na dose de 0,9 L ha<sup>-1</sup>. O controle de pragas foi realizado conforme a necessidade. Não se efetuou controle químico de doenças da parte aérea.

Os experimentos foram implantados com densidade de semeadura de 12 sementes por metro. Foi aplicada uma adubação equivalente a 400 kg ha<sup>-1</sup> de fertilizante 10-20-20 de N, P, K na semeadura. Após 20 dias da emergência, foram aplicados 150 kg ha<sup>-1</sup> de uréia em cobertura.

Devido à estiagem ocorrida nos estádios V4 e R5, no mês de março de 2004 (Figura 1), a cultura recebeu irrigação suplementar por aspersão.

Após a colheita, foram determinadas as massas de grãos e, de 500 grãos de cada parcela, a umidade dos grãos foi padronizada em pesagens para 13% de umidade. O rendimento de grãos foi extrapolado para Kg ha<sup>-1</sup>.

## 2.5. Características a serem avaliadas

As seguintes características morfológicas, agronômicas e de qualidade nutricionais foram analisadas:

- a) Número de dias para a maturação (DM): obtido pela razão entre o número de dias da emergência (V<sub>0</sub>) até o período de maturação fisiológica (R9);
- b) Produtividade de grãos em Kg ha<sup>-1</sup> (PROD): obtido mediante a massa de todos os grãos de cada parcela útil, padronizado para 13% de umidade;
- c) Massa de 500 grãos (P500): expresso em gramas, obtido pela pesagem de uma amostra de 500 grãos de cada tratamento;

- d) Resistência a Bacteriose (BAC): avaliação realizada no período próximo a maturação fisiológica das plantas. Foi utilizada escala de notas de 1 a 9, conforme Van-Schoonhoven e Pastor-Corrales (1987);
- e) Resistência à antracnose (ANTRAC): avaliou-se, após a floração, a resistência da antracnose nas folhas, empregando-se uma escala de resistência de um a nove, proposta por Van-Schoonhoven e Pastor-Corrales (1987). Nesta escala, 1 representa ausência de sintomas visíveis; 3, presença de puçás e pequenas lesões; 5, presença de várias lesões, geralmente pequenas (menos de 2 mm de diâmetro); 7, lesões abundantes, de tamanho mediano (mais de 2 mm de diâmetro); 9, necrose severa;
- f) Comprimento longitudinal do folíolo (FOL): medida tomada no folíolo terminal da terceira folha trifoliada, desde a base do limbo até a respectiva extremidade. Medida efetuada em plantas em condições de campo (IPGRI, 2001);
- g) Altura de plantas (ALTP): obtida pela média medição de 10 plantas por ocasião do estágio R9, medidas desde o nível do solo até a extremidade da planta;
- h) Número médio de vagens por planta (NVP): obtido pela média do número total de vagens produzidas em 10 plantas de cada tratamento (IPGRI, 2001);
- i) Número médio de sementes por planta (NSP): obtido pela média do número total de sementes produzidas em 10 plantas por tratamento (IPGRI, 2001);
- j) Proteína Bruta (PB%): obtida a partir de uma amostra de sementes (100g) de cada parcela dos tratamentos (cultivares), conforme metodologia proposta por Silva (1990);
- k) Fibra Bruta (FIBRA%): obtida a partir de uma amostra de sementes (100g) de cada parcela dos tratamentos (cultivares), conforme metodologia proposta por Silva (1990).

## **2.6. Análise Genético-Estatística das características morfo-agronômicas e nutricionais de cultivares tradicional de feijoeiro**

### **2.6.1. Delineamento experimental**

Cada experimento foi conduzido individualmente em blocos casualizados com 24 cultivares (21 cultivares tradicionais, tratamentos regulares + três testemunhas, denominadas de tratamentos comuns) e três repetições.

O delineamento utilizado foi de Experimentos em blocos ao acaso com tratamentos comuns, conforme preconizado por Pimentel-Gomes (1990).

A unidade experimental foi constituída por quatro fileiras de quatro metros de comprimento, espaçadas 0,45 cm, sendo, para efeito de avaliação, as duas linhas externas de cada parcela consideradas bordaduras. A área útil foi de 3,6 m<sup>2</sup>; as duas linhas centrais foram utilizadas para avaliação das características morfo-agronômicas.

### **2.6.2. Análise estatística**

Os dados foram inicialmente submetidos à análise de variância individual, por experimento, a fim de verificar a presença de variabilidade genética entre as cultivares avaliadas dentro de cada experimento. Subseqüentemente, foi realizada a análise agrupada em blocos incompletos para o grupo de experimentos (Experimentos 1 e 2).

O modelo geral da análise de variância individual pode ser expresso por:

$$Y_{ij} = m + g_i + b_j + \varepsilon_{ij}$$

Onde:  $Y_{ij}$  = observação do tratamento  $i$  no bloco  $j$ ;

$m$  = média geral;

$g_i$  = efeito do cultivar  $i$  ( $i= 1, 2, \dots, g$ );

$b_j$  = efeito do bloco  $j$  ( $j=1, 2, \dots, b$ );

$\varepsilon_{ij}$  = erro experimental;

Os esquemas das análises individuais dos experimentos e as esperanças de quadrados médios para a fonte de variação do modelo estatístico estão apresentados nos Quadro 2 (Cruz, 2001).

A distribuição das várias cultivares em diferentes experimentos teve por único objetivo permitir a utilização de blocos menores, diminuindo o problema da heterogeneidade. Assim, o grupo de ensaios constituiu, na verdade, de um único experimento. Os ensaios foram distribuídos na mesma área experimental, o que permitiu supor a não existência da interação experimentos x tratamentos. (Pimentel Gomes, 1990).

Quadro 2 – Representação esquemática de análise de variância individual

<b>F.V.</b>	<b>GL</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>	<b>F<sub>calc</sub></b>
Blocos	r-1	SQB	QMB	
Tratamentos	t-1	SQT	QMT	QMT/QMR
Cultivares	g-1	SQG	QMG	QMG/QMR
Testemunhas	Te-1	Séte	QMTe	QMTe/QMR
Cult x Test	1	SQGvsTe	QMGr	QMGr/QMR
Resíduo	(r-1)(t-1)	SQR	QMR	
Total	Rt-1	SQT <sub>o</sub>		

$$\text{Coeficiente de Variação: } CV = \left( \frac{100\sqrt{QMR}}{M} \right)$$

Quadro 3 – Representação esquemática das esperanças de quadrado médio para análise de variância individual.

<b>F.V.</b>	<b>GL</b>	<b>QM</b>	<b>E(QM)</b>
Blocos	r-1	QMB	$\sigma^2 + t\sigma_b^2$
Tratamentos	t-1	QMT	$\sigma^2 + r\phi_r$
Cultivares	g-1	QMG	$\sigma^2 + r\sigma_g^2$
Testemunhas	Te-1	QMTe	$\sigma^2 + r\phi_{te}$
Cult x Test	1	QMGr	---
Resíduo	(r-1)(t-1)	QMR	$\sigma^2$
Total	Rt-1		

No processo de análise, as médias dos tratamentos regulares são ajustadas, visto que esses tratamentos não ocorrem em todos os experimentos. As comparações entre tratamentos de um mesmo experimento são mais precisas em relação às comparações entre tratamentos de experimentos diferentes (RAMALHO et al., 2000). Segundo Cruz e Regazzi (1994) a relação entre o maior QMR e o menor QMR não deve ser maior do que 7:1, mostrando que é possível realizar a análise agrupada entre os dois experimentos do grupo comercial preto.

Quadro 4 – Representação esquemática de análise de variância agrupada

<b>F.V.</b>	<b>GL</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>	<b>F<sub>calc</sub></b>
Blocos	$(r-1)e$	SQB	QMB	
Experimento	$e-1$	SQE	QME	
Tratamento Ajustado	$\sum_{k=1}^e g_k + t - 1$	SQTe	QMTe	
Resíduo	$(r-1)\left(\sum_{k=1}^e g_k + et + e\right) + (t-1)(e-1)$	SQR	QMR	

### 2.6.3. Estimadores de correlações simples

De forma geral, a correlação entre dois caracteres quaisquer, X e Y, pode ser estimada a partir da seguinte expressão:

$$r_{(X,Y)} = \frac{COV_{(X,Y)}}{\sqrt{\sigma_X^2 \sigma_Y^2}} ;$$

onde:  $r_{(X,Y)}$  = correlação entre X e Y;

$COV_{(X,Y)}$  = covariância entre X e Y;

$\sigma_X^2; \sigma_Y^2$  = variância de X e Y, respectivamente.

A correlação pode ser calculada de três formas distintas, sendo esta na forma de correlação fenotípica, correlação genética e correlação ambiental, as quais podem ser estimadas pelas seguintes expressões:

$$r_F = \frac{COV_{F(X,Y)}}{\sqrt{\sigma_{F_X}^2 \sigma_{F_Y}^2}}$$

(Fenotípica)

$$r_G = \frac{COV_{G(X,Y)}}{\sqrt{\sigma_{G_X}^2 \sigma_{G_Y}^2}}$$

(Genética)

$$r_E = \frac{COV_{E(X,Y)}}{\sqrt{\sigma_{E_X}^2 \sigma_{E_Y}^2}}$$

(Ambiental)

#### 2.6.4. Análise Multivariada

A análise multivariada foi utilizada para avaliar a divergência entre os acessos, empregando-se a Análise de Variáveis Canônicas e de Agrupamento, com base na Distância Generalizada de Mahalanobis para as características quantitativas e o Coeficiente de Jaccard para as binárias fornecidas pelos marcadores moleculares de RAPD.

##### 2.6.4.1. Distância generalizada de Mahalanobis

As estimativas das distâncias generalizadas de Mahalanobis são obtidas através da expressão:

$$D_{ii'}^2 = \delta' \psi^{-1} \delta \text{ em que:}$$

$D_{ii'}^2$ : é a distância de Mahalanobis entre as cultivares **i** e **i'**;

$\psi$ : matriz da variância e covariâncias residuais;

$\delta$ :  $[d_1, d_2, \dots, d_v]$ , sendo  $d_j = Y_{ij} - Y_{i'j}$ ;

$Y_{ij}$ : é a média do *i*-ésimo cultivar em relação a *j*-ésima variável.

#### **2.6.4.2. Análise de agrupamento**

O agrupamento dos acessos tradicionais foi realizado, utilizando-se o Método de Otimização de Tocher e o Hierárquico do “Vizinho Mais Próximo”, empregando-se o programa estatístico Genes (Cruz, 2001).

#### **2.6.4.3. Método de Otimização de Tocher**

O método de Otimização de Tocher requer a obtenção da matriz de dissimilaridade, na qual é identificado o par de indivíduos mais similares, formando assim o grupo inicial. A partir daí é avaliada a possibilidade de inclusão de novos indivíduos, adotando-se o critério de que a distância média intragrupo deve ser menor que a distância média intergrupo (CRUZ e REGAZZI, 1994; CRUZ e CARNEIRO, 2003).

De acordo com Cruz e Carneiro (2003) a entrada de um indivíduo em um grupo sempre aumenta o valor médio da distância dentro do grupo. A inclusão de um genótipo em um grupo é feita da comparação entre o acréscimo no valor médio da distância dentro do grupo e um nível máximo permitido. O valor máximo pode ser estabelecido arbitrariamente ou adotar o valor máximo de  $D_{ij}^2$ , obtido da média de dissimilaridade encontrada no conjunto das menores distâncias envolvendo cada indivíduo, sendo esta a medida utilizada no presente trabalho.

#### **2.6.4.4. Método UPGMA**

O método UPGMA – (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean) tem por critério, para formação dos grupos, a média das distâncias entre todos os pares de itens que forma cada grupo. Sua finalidade original era construir os fenogramas taxonômicos que são árvores que refletem as similaridades fenotípicas entre as unidades, cultivares avaliadas. A distância entre grupos é a média das distâncias pareadas dos membros dos dois grupos. Algebricamente, é dada a distância entre os itens  $i$  e  $j$ , para  $i \neq j$ , conforme descrito por Dias (1998):

$$d_{ij} = \min (d_{ij})$$

a distância do item k em relação ao primeiro grupo formado por i e j, com  $k \neq i, j$ , fica definida por

$$d_{(ij)k} = \frac{1}{2} (d_{ik} + d_{jk})$$

e a distância entre dois grupos (ij) e (kl), com  $i, j \neq k, l$ , é dada por

$$d_{(ij)(kl)} = \frac{1}{4} (d_{ik} + d_{il} + d_{jk} + d_{jl})$$

#### 2.6.4.5. Componentes principais

Componentes principais consistem em transformar um conjunto original de características, como altura produção, dentre outras, em outro conjunto de dimensão equivalente, mas com propriedades importantes, que são de grande interesse em certos estudos de melhoramento genético. Cada componente principal é uma combinação linear das variáveis originais. Além disto, são independentes entre si e estimados com o propósito de reter, em ordem de estimação, o máximo da informação, em termos de variação total contida nos dados iniciais.

O propósito principal é reduzir a dimensão do espaço das variáveis, através da substituição das variáveis originais, por um conjunto reduzido de novas variáveis que mantenham a informação relevante provida pelas variáveis originais. Este processo gera um número pequeno de índices, denominados componentes principais, que se constituem em combinações lineares não correlacionadas das variáveis originais.

As seguintes propriedades devem ser estabelecidas:

a) Se  $Y_{ij}$  é um componente principal, então:

$$Y_{ij} = a_1 X_{i1} + a_2 X_{i2} + \dots + a_n X_{in}$$

b) Se  $Y_{ij'}$  é outro componente principal, então:

$$Y_{ij'} = b_1 X_{i1} + b_2 X_{i2} + \dots + b_n X_{in}$$

Onde:  $X_{ij}$  = média padronizada do j-ésimo caráter ( $j= 1,2,\dots,n$ ) avaliadas no i-ésimo progenitor ( $i=1,2,\dots,p$ ) e  $R$  a matriz de covariância entre estes caracteres (ou matriz de correlações fenotípicas entre os caracteres, com base nos dados originais).

$$\sum_j a_j^2 = \sum_j b_j^2 = 1$$

$$\sum_j a_j b_j = 0, \text{ ou seja, os componentes são não-correlacionados.}$$

c) Dentre todos os componentes principais,  $Y_{i1}$  apresenta a maior variância,  $Y_{i2}$  a segunda maior e, assim, sucessivamente.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1. Análise da Variância

No Quadro 5 estão apresentados os resultados referentes à análise de variância individual do experimento 1 para os onze caracteres avaliados. Pode-se observar que a precisão experimental, determinada pelo coeficiente de variação (CV%), oscilou entre 1,11 e 25,21% para os caracteres dias para a maturação (DM) e número de vagens por planta (NVP), respectivamente. No que se refere ao experimento 2, foi verificada uma amplitude deste coeficiente de variação entre 0,92 e 22,12% para os caracteres dias para a maturação (DM) e número de sementes por planta (NSP), respectivamente (Quadro 6). Isto está de acordo com outros estudos, onde a precisão experimental variou conforme o caráter analisado (MARQUES JUNIOR et al., 1997; CEOLIN, 2003).

Neste estudo, foi observada diferença significativa ( $P \leq 0,01$ ) entre as cultivares do experimento 1 para os caracteres peso de 500 grãos (P500), dias para maturação (DM), altura de plantas (ALTP), número de vagens por plantas (NVP), número de sementes por plantas (NSP) e para a percentagem de proteína bruta (Quadro 5). No que se refere ao experimento 2, foi verificada diferença significativa ( $P \leq 0,01$ ) para os seguintes caracteres DM, PROD, P500, NVP e NSP (Quadro 6). Estes resultados demonstram a existência de variabilidade entre as cultivares tradicionais e testemunhas e, conseqüentemente, a possibilidade de obtenção de ganhos genéticos em programas de melhoramento com a introgressão de germoplasma tradicional.

Em relação às características comprimento do folíolo (FOL), antracnose (ANTR) e teor de fibra bruta, não foram detectados diferenças significativas entre as cultivares avaliadas nos dois experimentos de cultivares de grãos pretos (Quadro 5 e 6).

Quanto à incidência de antracnose, as condições climáticas podem explicar em parte este comportamento, já que a precipitação pluviométrica foi reduzida nos meses de estabelecimento da cultura, em especial no mês de março de 2004 (Figura 1).

Quadro 5 – Resumo da análise de variância para 11 características avaliadas no experimento 1 de 24 cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris* L), do grupo Preto em Chapecó – SC

F.V.	Quadrados Médios <sup>1</sup>											
	GL	DM	PROD	P500	BAC	ANTR	FOL	ALTP	NVP	NSP	PB	FB
Blocos	2	0,79	83053,7	7,05	0,17	1,09	3,58	0,042	52,25	545,15	0,67	0,19
Tratamento	23	2,34	1418011,6	787,3	0,56	0,32	0,61	0,044	69,74	1313,9	2,80	0,19
Cultivares	20	2,48**	133764,6*	874,5**	0,62*	0,30 <sup>ns</sup>	0,62 <sup>ns</sup>	0,045**	77,12**	1430,5**	3,12**	0,21 <sup>ns</sup>
Testemunha (Test)	2	1,00 <sup>ns</sup>	287824,9*	14,11 <sup>ns</sup>	0,11 <sup>ns</sup>	0,44 <sup>ns</sup>	0,36 <sup>ns</sup>	0,018 <sup>ns</sup>	26,56 <sup>ns</sup>	738,3*	0,93 <sup>ns</sup>	0,10 <sup>ns</sup>
Cultivares x Testemunha.	1	2,16 <sup>ns</sup>	10725,4 <sup>ns</sup>	589,33**	0,20 <sup>ns</sup>	0,33 <sup>ns</sup>	1,08 <sup>ns</sup>	0,075*	8,56 <sup>ns</sup>	134,5 <sup>ns</sup>	0,16 <sup>ns</sup>	0,08 <sup>ns</sup>
Resíduo	46	0,92	59862,6	12,64	0,31	0,42	0,57	0,015	19,89	212,6	1,24	0,19
Média Geral		86,79	1216,5	88,34	4,08	3,07	10,32	0,82	17,69	80,11	20,85	4,38
Média Cultivares.		86,86	1211,9	89,43	4,06	3,09	10,37	0,83	17,82	80,62	20,83	4,40
Média Test.		86,33	1248,8	80,78	4,22	2,89	10,00	0,73	16,78	76,49	20,97	4,29
CV (%)		1,11	20,11	4,02	13,67	21,02	7,33	14,80	25,21	18,20	5,34	9,92

<sup>1</sup> DM – Dias para maturação; PROD – Rendimento de grãos Kg ha<sup>-1</sup>; P500 – Massa de 500 grãos; BAC – Bacteriose; ANTR – Antracnose; FOL – Comprimento do folíolo; ALTP – Altura da planta; NVP – Número de vagens por planta; NSP – Número de sementes por planta; PB – Proteína Bruta (%); FB – Fibra Bruta (%). \*\*, \*Significativo, a 1% e 5% de probabilidade, respectivamente, pelo teste F.

Quadro 6 – Resumo da análise de variância para 11 características avaliadas no experimento 2 de 24 cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris* L), do grupo Preto em Chapecó – SC

F.V.	Quadrados Médios <sup>1</sup>											
	GL	DM	PROD	P500	BAC	ANTR	FOL	ALTP	NVP	NSP	PB%	FB%
Blocos	2	1,50	47128,0	0,72	0,50	0,52	0,23	0,14	17,61	895,8	1,09	1,00
Tratamento	23	5,89	144785,7	655,11	0,72	0,14	0,77	0,03	30,46	983,4	1,91	0,23
Cultivares	20	6,14**	147142,4**	741,04**	0,56*	0,14 <sup>ns</sup>	0,65 <sup>ns</sup>	0,03 <sup>ns</sup>	34,08**	1128,6**	2,14*	0,26 <sup>ns</sup>
Testemunha (Test)	2	4,33**	17171,6 <sup>ns</sup>	27,44 <sup>ns</sup>	2,11**	0,11 <sup>ns</sup>	2,30*	0,07 <sup>ns</sup>	8,80 <sup>ns</sup>	3,25 <sup>ns</sup>	0,48 <sup>ns</sup>	0,03 <sup>ns</sup>
Cultivares x Testemunha.	1	4,02*	352880,7**	191,91**	1,05*	0,00 <sup>ns</sup>	0,001 <sup>ns</sup>	0,07 <sup>ns</sup>	1,26 <sup>ns</sup>	39,56 <sup>ns</sup>	0,08 <sup>ns</sup>	0,05 <sup>ns</sup>
Resíduo	46	0,66	22877,93	13,71	0,27	0,15	0,53	0,019	7,97	264,9	1,20	0,21
Média Geral		87,96	1423,73	85,43	4,13	3,11	10,92	0,88	15,39	73,57	21,92	4,36
Média Cultivares.		88,05	1397,27	86,05	4,08	3,11	10,92	0,89	15,44	73,29	21,93	4,37
Média Test.		87,33	1608,95	81,11	4,44	3,11	10,91	0,79	15,04	75,53	21,83	4,28
CV (%)		0,92	10,62	4,33	12,55	12,52	6,66	15,75	18,34	22,12	4,99	10,48

<sup>1</sup> DM – Dias para maturação; PROD – Rendimento de grãos Kg ha<sup>-1</sup>; P500 – Massa de 500 grãos; BAC – Bacteriose; ANTR – Antracnose; FOL – Comprimento do folíolo; ALTP – Altura da planta; NVP – Número de vagens por planta; NSP – Número de sementes por planta; PB – Proteína Bruta (%); FB – Fibra Bruta (%). \*\*, \*Significativo, a 1% e 5% de probabilidade, respectivamente, pelo teste F.<sup>1</sup>Por sua vez, em relação aos teores de fibra, Londero et al. (2005) estudaram a variabilidade genética para teores de fibra e rendimento de grãos em 26 populações de feijão. Os caracteres fibra bruta e fibra solúvel não apresentaram efeitos significativos, indicando que não foi possível a identificação de variabilidade genética entre as populações.

Na análise agrupada (Quadro 7) mostrou diferença significativa ( $P \leq 0,01$ ) entre os tratamentos que incluíram tanto as cultivares tradicionais como as testemunhas para os caracteres PROD, P500, BAC, ALTP, NVP e teor de proteína bruta, confirmando a existência de variabilidade fenotípica para estes caracteres.

O resultado expressivo é a existência da interação entre cultivares x testemunhas no experimento 2 (Quadro 6), bem como a superioridade do rendimento de grãos das testemunhas em relação às cultivares tradicionais, fato comprovado no rendimento médio das testemunhas, de  $1.428 \text{ Kg ha}^{-1}$  em comparação à média do rendimento das cultivares tradicionais que foi de  $1.304 \text{ kg ha}^{-1}$  (Quadro 6). Considerando que as testemunhas, cultivares melhoradas em uso comercial em várias regiões do Brasil, reflete, desta maneira, o esforço dos programas de melhoramento genético em feijão nas últimas décadas no sul do Brasil, Ribeiro et al. (2003) no Rio Grande do Sul, Elias et al. (1999) em Santa Catarina e Fonseca Junior et al. (1996) no Paraná, nos quais foram obtidos ganhos anuais de 0,88%, 1,21% e 1,02% respectivamente.

Por outro lado, o resultado médio das 45 cultivares avaliadas, quanto ao rendimento médio de grãos dos ensaios, foi de  $1.312 \text{ Kg.ha}^{-1}$  (Quadro 8), sendo o maior rendimento verificado na cultivar CFE 25 ( $1.841 \text{ Kg ha}^{-1}$ ). Além desta, as cultivares CFE 02, CFE 18, CFE 94 também foram superiores a  $1.600 \text{ Kg.ha}^{-1}$ . São cultivares tradicionais que superaram as três testemunhas, cultivares melhoradas.

Desta forma, verifica-se que algumas cultivares utilizadas por agricultores de Santa Catarina apresentam potencial para serem incorporadas aos programas de melhoramento, ou até para uso imediato para cultivo comercial, devido a sua produtividade ser superior às testemunhas. Este fato corrobora com a perspectiva de utilização do germoplasma tradicional no melhoramento do feijão, em relação à característica rendimento de grãos.

Quadro 7 – Resumo de análise de variância agrupada para 11 características avaliadas de 45 cultivares de feijão do grupo Preto, em Chapecó – SC

F.V.	Quadrados Médios <sup>1</sup>											
	GL	DM	PROD	P500	BAC	ANTR	FOL	ALTP	NVP	NSP	PB	FB
Blocos	2	1.14	65.090,9	3,9	0,33	0,80	1,90	0,09	34,93	720,5	0,88	0,59
Experimento	1	49**	1.546.338,3	306,3	0,063	0,063	12,84	0,13	189,75	1.536,6	41,7	0,018
Tratamento Ajustado	44	4,25**	141.514,6**	752,9**	0,59**	0,22 <sup>ns</sup>	0,68 <sup>ns</sup>	0,037**	50,92**	1.183,0**	2,44**	0,22 <sup>ns</sup>
Resíduo	94	0,79	44.374,1	13,4	0,32	0,29	0,56	0,017	14,31	242,1	1,20	0,19
Média Geral		87,37	1.320,10	86,88	4,10	3,09	10,62	0,85	16,54	76,84	21,38	4,37
Média Cultivares		87,45	1.304,56	87,74	4,07	3,10	10,65	0,86	16,63	76,96	21,38	4,38
Média Testemunha		86,83	1.428,86	80,94	4,33	3,00	10,46	0,77	15,91	76,01	21,40	4,29
CV (%)		1,02	15,95	4,21	13,71	17,3	7,02	15,38	22,87	20,25	5,12	10,13

<sup>1</sup> DM – Dias para maturação; PROD – Rendimento de grãos Kg ha<sup>-1</sup>; P500 – Peso de 500 grãos; BAC – Bacteriose; ANTR – Antracnose, FOL – Comprimento do folíolo; ALTP – Altura da planta; NVP – Número de vagens por planta; NSP – Número de sementes por planta; PB – Proteína Bruta (%); FB – Fibra Bruta (%). \*\*, \*Significativo, a 1% e 5% de probabilidade, respectivamente, pelo teste F.

Quadro 8 - Médias de 11 caracteres avaliados em 45 cultivares de feijão do grupo Preto (*Phaseolus vulgaris* L.). Chapecó, SC

Cód.	Cultivar	DM	PROD	P500	BAC	ANTR	FOL	ALTP	NVP	NSP	PB	FB
1	CFE 02 – FC 2017	87,5 a	1.605 a	80,5 e	3,11 b	3,11 a	11,1 a	1,04 a	32,13 a	145,7 a	20,1 b	1,30 a
2	CFE 07 – FC 2053	86,5 c	1.407 a	80,8 e	4,77 a	3,11 a	10,5 a	0,73 a	18,06 c	84,1 a	19,6 b	4,45 a
3	CFE 08 – FC 2036	86,8 c	1.284 a	80,8 e	4,11 b	3,77 a	10,7 a	0,86 a	12,93 c	59,9 b	22,3 a	4,83 a
4	CFE 18 – FC 2044	86,8 c	1.612 a	90,5 d	4,11 b	2,77 a	10,3 a	0,93 a	13,53 c	99,5 a	19,6 b	4,13 a
5	CFE 22 – FC 2028	86,5 c	1.387 a	79,5 e	4,77 a	3,44 a	11,6 a	0,74 b	16,20 c	76,1 b	20,6 b	4,53 a
6	CFE 25 – FC 2026	86,5 c	1.841 a	<b>140,5 a</b>	4,77 a	3,11 a	11,6 a	0,86 a	13,60 c	61,5 b	19,9 b	4,46 a
7	CFE 29 – FC 2062	85,8 c	1.715 a	87,1 d	3,11 b	3,11 a	10,1 a	0,62 b	22,60 b	100,9 a	19,9 b	4,40 a
8	CFE 34 – FC 2048	86,5 c	1.231 b	70,8 f	4,44 a	3,44 a	10,7 a	0,70 b	16,20 c	72,1 b	21,3 b	4,39 a
9	CFE 61 – FC 2041	86,8 c	786 b	117,1 b	4,77 a	3,44 a	10,7 a	0,97 a	14,20 c	49,1 b	22,2 a	4,12 a
10	CFE 74 – FC 154	88,1 b	1.288 a	76,8 e	3,11 b	2,77 a	10,7 a	0,97 a	22,97 b	89,2 a	22,3 a	4,87 a
11	CFE 75 – FC 1158	87,5 c	1.541 a	118,5 b	4,11 b	3,44 a	10,6 a	1,01 a	25,46 b	110,1 a	21,3 b	4,61 a
12	CFE 76 – FC 149	87,1 c	1.326 a	83,8 e	4,11 b	2,77 a	12,3 a	0,80 b	12,26 c	56,3 b	22,9 a	4,27 a
13	CFE 77 – FC 124	88,1 b	1.430 a	91,8 d	3,11 b	3,11 a	10,9 a	0,91 a	17,40 c	82,7 a	21,1 b	3,97 a
14	CFE 79 – manteiga	87,1 c	1.400 a	83,1 e	3,11 b	2,77 a	10,6 a	0,85 a	14,80 c	63,3 b	20,7 b	4,45 a
15	CFE 80 – FC 155	88,8 b	1.367 a	95,5 b	3,11 b	3,11 a	10,8 a	1,12 a	19,80 b	85,1 a	22,1 a	4,47 a
16	CFE 82 – manteiga	88,8 b	1.260 a	75,5 f	3,44 b	3,11 a	11,2 a	0,90 a	24,0 b	92,6 a	21,9 a	4,50 a
17	CFE 83 – FC 129	88,5 b	1.462 a	86,8 d	4,11 b	2,77 a	11,0 a	0,89 a	17,26 c	70,5 b	22,0 a	4,73 a
18	CFE 84 – FC 16	86,5 c	1.330 a	72,8 f	3,11 b	3,44 a	10,3 a	0,79 b	15,20 c	74,5 b	21,3 b	4,36 a
19	CFE 86 – FC 94	88,5 b	1.266 a	100,5 b	4,11 b	3,44 a	11,6 a	0,94 a	16,53 c	73,3 b	21,3 b	3,85 a
20	CFE 87 – FC 135	88,1 b	1.352 a	85,5 d	4,44 a	3,44 a	10,6 a	0,85 a	12,26 c	54,5 b	22,4 a	4,07 a
21	CFE 89 – FC 1166	87,5 c	1.338 a	82,8 e	4,77 a	3,11 a	10,6 a	0,83 b	16,80 c	82,7 a	20,9 b	4,24 a
22	CFE 117 – FC 156	89,1 a	849 b	72,5 f	3,88 b	2,88 a	10,3 a	1,01 a	20,26 b	110,7 a	21,1 b	4,39 a
23	CFE 118 – FC 177	85,8 c	903 b	67,5 f	4,22 b	3,22 a	10,5 a	0,86 a	13,67 c	65,5 b	22,4 a	4,80 a
24	CFE 115 – Bolinha	88,8 b	976 b	90,8 d	3,88 b	2,88 a	10,8 a	0,81 b	9,06 c	44,4 b	22,1 a	5,01 a

Continuação Quadro 8...

Cód.	Cultivar	DM	PROD	P500	BAC	ANTR	FOL	ALTP	NVP	NSP	PB	FB
25	CFE 110 – FC 139	86,5 c	923 b	84,5 d	3,88 b	3,22 a	10,1 a	0,97 a	18,40 c	84,7 a	22,0 a	4,82 a
26	CFE 108 – Turrialba	86,2 c	1172 b	85,5 d	3,88 b	3,22 a	9,4 a	0,98 a	16,27 c	70,6 b	21,2 b	4,00 a
27	CFE 92 – FC 178	86,8 c	1.227 b	116,8 b	4,22 b	2,88 a	10,9 a	0,90 a	12,00 c	51,6 b	20,6 b	4,48 a
28	CFE 93–CopinhaFC 1165.	87,2 c	1.219 b	77,8 e	3,22 b	2,88 a	10,3 a	0,72 b	15,06 c	73,5 b	21,5 a	3,98 a
29	CFE 94 – FC 93	86,8 c	1.653 a	82,5 e	3,88 b	2,88 a	10,6 a	0,82 b	19,53 b	105,4 a	21,3 b	3,30 a
30	CFE 95 – FC 109	85,8 c	1.059 b	71,5 f	4,77 a	3,55 a	10,5 a	0,90 a	13,83 c	69,8 b	22,8 a	4,56 a
31	CFE 96 – FC 179	87,5 c	1.394 a	79,1 e	3,88 b	2,88 a	10,2 a	0,90 a	16,23 c	74,4 b	22,4 a	4,31 a
32	CFE 97 – FC 133	89,8 a	983 b	89,8 d	3,55 b	2,55 a	11,1 a	0,99 a	11,46 c	52,2 b	22,7 a	4,51 a
33	CFE 129 – FC 137	86,8 c	1.371 a	80,8 e	4,22 b	2,88 a	10,5 a	0,72 b	16,67 c	79,9 b	20,0 b	4,31 a
34	CFE 100 – FC 113	86,2 c	1.463 a	139,1 a	4,22 b	3,22 a	10,5 a	0,73 b	11,93 c	51,2 b	20,3 b	4,28 a
35	CFE 102–FC 1163–Topixaba	86,2 c	1.488 a	86,1 d	3,88 b	2,88 a	10,2 a	0,95 a	21,93 b	106,8 a	21,2 b	4,02 a
36	CFE 103 – FC 87	87,5 c	1.400 a	82,8 e	3,88 b	2,88 a	10,3 a	0,88 a	13,67 c	70,1 b	21,7 a	4,07 a
37	CFE 106 – FC 61	86,8 c	1.275 a	81,1 e	4,22 b	2,88 a	9,6 a	0,87 a	12,0 c	55,6 b	20,8 b	4,00 a
38	CFE 109 – FC 139	89,3 a	1.183 b	89,8 d	3,88 b	3,22 a	11,4 a	0,71 a	12,33 c	59,5 b	20,9 b	4,49 a
39	CFE 111 – FC 38	89,8 a	1.157 b	81,8 e	3,88 b	2,88 a	11,0 a	0,97 a	19,40 b	105,4 a	21,6 a	4,35 a
40	CFE 112 – FC 170	89,8 a	1.070 b	83,1 e	3,55 b	2,88 a	11,0 a	0,80 b	19,63 b	91,4 a	20,2 b	4,27 a
41	CFE 113 – Taquara FC 1161	88,2 b	1.479 a	90,8 d	3,22 b	2,88 a	10,3 a	0,78 b	17,46 c	67,1 b	22,6 a	4,17 a
42	CFE 116 – FC 164	86,8 c	1.315 a	76,1 f	4,55 a	3,22 a	10,1 a	0,71 b	16,40 c	72,8 b	21,1 b	4,73 a
43	FT Nobre	87,6 c	1.303 a	79,1 f	4,77 a	3,00 a	10,6 a	0,74 b	16,13 c	71,9 b	21,7 a	4,26 a
44	Diamante Negro	86,8 c	1.399 a	82,6 e	4,00 b	2,83 a	9,8 a	0,78 b	15,06 c	71,3 b	21,5 a	4,40 a
45	EMPASC 201	86,0 c	1.584 a	81,0 e	4,33 a	3,16 a	10,9 a	0,76 b	16,53 c	84,8 a	20,9 b	4,19 a
Média		87,4	1.312,7	87,51	3,97	3,10	10,65	0,86	16,65	77,21	21,34	4,28
CV%		1.02	15.95	4.2	13.7	17.3	7.0	15.4	22,56	20.2	5.1	10.1

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem em nível de 5% de probabilidade pelo teste de Scott e Knott (1974). <sup>1</sup> DM – Dias para maturação; PROD – Rendimento de grãos Kg ha<sup>-1</sup>; P500 – Peso de 500 grãos; BAC – Bacteriose; ANTR – Antracnose; FOL – Comprimento do folíolo; ALTP – Altura da planta; NVP – Número de vagens por planta; NSP – Número de sementes por planta; PB – Proteína Bruta (%); FB – Fibra Bruta (%).

O caráter massa de 500 grãos (P500) foi o que apresentou maior discriminação entre os tratamentos pelo teste Scott e Knott (1974), ou seja, foi aquele em que se obteve o maior número de grupos significativamente diferentes entre as 45 cultivares avaliadas. Os valores para esta característica oscilaram entre 13,5 e 28,1 g, convertidos para peso de 100 sementes, o que evidencia variabilidade entre as cultivares. De acordo com Singh (1989), o tamanho das sementes de feijão cultivado pode variar de menos de 15g a 90g por 100 sementes e são agrupadas em pequenas (< 25g), médias (25 a 40g) e grandes (> 40g por 100 sementes).

Um dos caracteres importantes, associado à aceitação comercial, é o tamanho dos grãos. Há uma tendência entre os consumidores por feijões de grãos médios, o que tem sido utilizado como parâmetro diferencial de cultivares (COLLICCHIO, 1997). Mesmo verificando que a maioria das cultivares no presente estudo são classificadas como portadoras de grãos pequenos, foi identificado que duas delas apresentam grãos médios, quais sejam: CFE 25–FC 2026 e CFE 100–FC 113.

Outra característica que apresentou variabilidade entre as cultivares avaliadas, foi o teor de proteína bruta que teve média geral de 21,38 %, com amplitude de variação de 4,1% (Quadro 8). A variação do teor de nitrogênio e, conseqüentemente, de proteínas totais ocorre, não somente nas diferentes cultivares, mas também na mesma cultivar avaliada em ambientes diferentes, mostrando, portanto, a influência do meio sobre a formação da semente.

A avaliação do teor de proteína em 33 cultivares tradicionais foi realizada por Silva e Iachan (1975), que verificaram um valor médio de 21,9%; da mesma forma, Vidigal Filho et al. (2003) desenvolveram estudos de qualidade nutricional em 25 cultivares tradicionais do Paraná, obtendo o percentual médio de proteína de 23,1%, sendo, portanto, valores semelhantes aos obtidos no presente trabalho. As cultivares demonstraram presença de variabilidade genética para a característica teor de proteína nos grãos, fato que propicia a seleção de cultivares com maiores teores de proteína.

Outros trabalhos, como o de Rodiño (2001), destacaram a qualidade nutricional em cultivares tradicionais. O conteúdo de proteína e açúcar foi analisado, identificando-se cultivares com teor protéico superior a 30%. Casañas (1999) ressaltou qualidades nutricionais da cultivar tradicional Ganxet,

utilizada na Espanha. Esta cultivar apresentou mais proteínas e fibra digestiva do que as cultivares comerciais em uso naquele país. Também analisou as características nutricionais em linhagens derivadas desta cultivar, as quais apresentaram variabilidade dentro do germoplasma.

O ciclo de produção é uma das características que assume importância conforme a região de cultivo, pois possibilitam um melhor planejamento da época de semeadura e a utilização racional do campo de produção agrícola. A maioria das cultivares de feijão disponível no mercado apresenta ciclo de 90 dias da semeadura à colheita. Contudo, há linhagens precoces disponíveis com ciclo de até 70 dias (ZIMMERMANN et. al., 1996).

O problema é que as cultivares precoces, além de não apresentarem tipos de grãos de boa aceitação no mercado, normalmente são muito susceptíveis aos patógenos e a outras condições ambientais adversas que limitam seu potencial produtivo e restringem sua recomendação como cultivares Ramalho et al. (2004a).

Os resultados do presente estudo, em relação ao ciclo e dias para a maturação (DM), oscilou entre as 45 cultivares de 85,8 dias a 89,8 dias e uma amplitude de variação de 4 dias. Verifica-se assim, uma pequena diferenciação em relação a este caráter, já que não foi possível identificar cultivares precoces.

### **3.2. Análise de Correlações**

Os índices de correlações determinadas entre os caracteres avaliados estão apresentados no Quadro 9. As correlações que se destacaram, sendo significativas pelo teste t a 5% de probabilidade foram: DM, positivamente correlacionado com altura de plantas. Geralmente as cultivares de hábito de crescimento tipo III, têm um período de florescimento maior e conseqüentemente um ciclo maior quando comparado com cultivares com hábito de crescimento determinado.

As características avaliadas: número de vagens por planta (NVP) e número de sementes por planta (NSP), foram positivamente correlacionadas

entre resultados já esperados e com rendimento de grãos (PROD) em concordância com outros trabalhos de (CASTOLDI,1991; RIBEIRO et al., 2001; MIRJANA, 2005). Este fato demonstra que estas duas características constituem componentes importantes para o rendimento de grãos. Índices de correlações negativas foram verificados entre NVP, ANT e BAC, fato plenamente explicado, visto que, com menor área foliar, há uma menor produção de fotoassimilados e, por conseqüência, sementes também, muito embora esta magnitude de correlação não tenha sido verificada com PROD (Quadro 5).

A altura de planta (ALTP) foi positivamente correlacionada com os caracteres NVP e NSP, resultado semelhante encontrado por Mirjana (2005). Isto pode ser facilmente explicado, pois, quanto maior a ramificação, maior o número de flores e maior o número de vagens e sementes por planta. Cultivares que apresentam hábito de crescimento indeterminado tem apresentado uma maior eficiência fotossintética que propicia uma associação positiva entre altura de planta e os caracteres número de vagens por planta e número de sementes por planta.

Conforme Quadro 9, pode-se observar correlação negativa entre percentagem de proteína bruta (PB%) e rendimento de grãos (PROD) (Quadro 9). Lemos et al. (2004) também observaram que as cultivares que apresentaram os maiores teores de Proteína Bruta nem sempre sobressaíram nas outras características avaliadas, especialmente em relação à produtividade de grãos. Uma das possíveis explicações para este fato é de que, o controle genético do conteúdo protéico total é complexo. A variação da percentagem de proteínas não é apenas dependente da expressão genética que controla a síntese e o acúmulo de frações específicas de proteínas, mas também de genes que controlam outros fatores, tais como, aquisição de nutrientes, vigor da planta, tamanho da semente, síntese e acúmulo de amido na semente (OSBORN et al., 1988).

Correlações negativas entre os componentes primários da produção de grãos podem ocorrer na maioria das culturas, principalmente em condições de estresse ambiental, que podem não permitir a máxima expressão dos genes que controlam estes componentes. Segundo Adams (1967), correlações

negativas entre os componentes primários da produção de grãos ocorrem na maioria das culturas, principalmente em condições de estresse ambiental, que podem não permitir a máxima expressão dos genes que controlam esses componentes. O mesmo autor acredita que tais correlações sejam devido à ação do ambiente sobre componentes geneticamente independentes, que se desenvolvem de uma maneira sequencial, ou seja, primeiro tem-se o número de vagens por planta, depois o número de grãos por vagem e, por último o peso desses grãos. Estudos dos componentes do rendimento do feijoeiro em análise de trilha foi realizado por Gonçalves (1979), que observou efeito direto e indireto positivos do número de sementes por vagem, via número de vagens por planta e efeito direto negativo, via peso de 100 grãos. Esses resultados evidenciam a importância da compensação entre os componentes do rendimento em feijoeiro.

Quadro 9 - Resumo de correlação fenotípica (Pearson) para 11 características avaliadas em 45 cultivares de feijão do Grupo Preto (*Phaseolus vulgaris* L), em Chapecó – SC

	DM	PROD	P500	BAC	ANTR	FOL	ALTP	NVP	NSP	PB	FB
DM	1,00										
PROD	-0,30*	1,00									
P500	-0,06 <sup>ns</sup>	0,26 <sup>ns</sup>	1,00								
BAC	-0,46**	0,01 <sup>ns</sup>	0,15 <sup>ns</sup>	1,00							
ANTR	-0,32*	-0,07 <sup>ns</sup>	0,06 <sup>ns</sup>	0,52**	1,00						
FOL	0,37*	0,05 <sup>ns</sup>	0,22 <sup>ns</sup>	0,18 <sup>ns</sup>	0,17 <sup>ns</sup>	1,00					
ALTP	0,34*	0,10 <sup>ns</sup>	0,04 <sup>ns</sup>	-0,27 <sup>ns</sup>	-0,15 <sup>ns</sup>	0,02 <sup>ns</sup>	1,00				
NVP	0,08 <sup>ns</sup>	0,24 <sup>ns</sup>	-0,18 <sup>ns</sup>	-0,31*	-0,06 <sup>ns</sup>	-0,02 <sup>ns</sup>	0,37*	1,00			
NSP	0,03 <sup>ns</sup>	0,33*	-0,26 <sup>ns</sup>	-0,23 <sup>ns</sup>	0,06 <sup>ns</sup>	-0,01 <sup>ns</sup>	0,35*	0,89**	1,00		
PB	0,23 <sup>ns</sup>	-0,48**	-0,25 <sup>ns</sup>	-0,15 <sup>ns</sup>	0,03 <sup>ns</sup>	-0,09 <sup>ns</sup>	0,23 <sup>ns</sup>	-0,16 <sup>ns</sup>	-0,35*	1,00	
FB	0,06 <sup>ns</sup>	-0,22 <sup>ns</sup>	-0,13 <sup>ns</sup>	0,09 <sup>ns</sup>	0,05 <sup>ns</sup>	0,14 <sup>ns</sup>	0,05 <sup>ns</sup>	0,03 <sup>ns</sup>	-0,07 <sup>ns</sup>	0,24 <sup>ns</sup>	1,00

DM – Dias para maturação; PROD – Rendimento de grãos Kg ha<sup>-1</sup>; P500 – Peso de 500 grãos; BAC – Bacteriose; ANTR – Antracnose; FOL – Comprimento do folíolo; ALTP – Altura da planta; NVP – Número de vagens por planta; NSP – Número de sementes por planta; PB – Proteína Bruta (%); FB – Fibra Bruta (%). \*\*, \* Significativo em nível de 1 e 5%, respectivamente, pelo teste t; <sup>ns</sup> Não Significativo.

Acredita-se que tais correlações sejam devido à ação do ambiente sobre componentes geneticamente independentes que se desenvolvem de uma maneira seqüencial; há também intensa competição entre diferentes partes da planta por nutrientes e metabólitos. Esta competição é particularmente expressiva durante a formação das estruturas reprodutivas, o que resulta em uma variação compensatória entre os componentes primários de produção (COELHO, 2002).

Entretanto, estudos de correlações entre cultivares fixos têm demonstrado que há possibilidade de que pelo menos o sinal se mantenha nas populações segregantes, de tal forma que o melhorista pode, de início, estabelecer estratégias de seleção mais adequadas (AMARAL JUNIOR, 1996).

As cultivares CFE 83, CFE-113, CFE 74, CFE 76, CFE 80, CFE 82, CFE 83, CFE 87, CFE 96, CFE 103, CFE 113 e FT Nobre destacaram-se em relação às características percentagem de proteína bruta, teor de fibra bruta e produção de grãos (Quadro 9). Este fato sugere que essas cultivares poderão ser utilizadas em programas de melhoramento, associando outras características importantes, como resistência a doenças e porte de planta.

### **3.3. Análise multivariada**

#### **3.3.1. Distância generalizada de Mahalanobis ( $D^2$ )**

As distâncias entre os pares de cultivares, considerando-se as onze características morfológicas, agrônômicas e nutricionais nas 45 cultivares tradicionais de feijão avaliado (Quadro 1A), indicaram, respectivamente, que os pares mais próximos foram: (19 - CFE 86 e 7- CFE 29); (24 - CFE 115 e CFE 76); (31 - CFE 96 e 7 - CFE 29); (36 - CFE 103 e CFE - 76); (39 - CFE 111 e 15 - CFE 80); (31 - CFE 96 e 19 - CFE 86); (36 – CFE 103 e 24 - CFE 115); (42 - CFE 116 e 30 – CFE 95); ( 43 - FT Nobre e 19 – CFE 86); (43 - FT Nobre e 31 - CFE 96) e (43 - FT Nobre e 7 - CFE 29).

Vale ressaltar a relação próxima da cultivar testemunha FT Nobre com as cultivares tradicionais 7, 19 e 31, as quais foram incluídas no mesmo grupo,

na análise de Tocher (Quadro 10). Sabidamente, a cultivar FT Nobre foi a mais cultivada no Sul do Brasil, na década de 90, e como várias amostras deste estudo não apresentaram denominação específica ou eram denominadas “feijão preto comum” pelos agricultores, há indícios de que sejam duplicatas, com origem comum da cultivar FT Nobre. Fonseca e Silva (1999), utilizando a técnica de agrupamento pela distância generalizada de Mahalanobis afirmaram ser viável a utilização desta metodologia, por ser eficaz na identificação de duplicidades de acessos de feijão, podendo ser utilizada rotineiramente em Bancos de Germoplasma.

Neste raciocínio, a menor distância identificada entre todos os pares avaliados foi entre as cultivares 15 - CFE 80 e 39 - CFE 111 (Anexo - Quadro 1A). Os resultados sugerem que estas cultivares podem ser consideradas aparentadas. Obviamente, para se ter certeza desta afirmativa, somente com o uso de técnicas mais apuradas, tais como marcadores microssatélites, os quais possibilitam distinguir entre cultivares com grau de parentesco muito próximo (FERREIRA e GRATTAPAGLIA,1995).

Por outro lado, em relação às cultivares mais dissimilares, observou-se que a cultivar 5 – CFE 22 (Grupo VII), quando comparando suas distâncias em relação as 44 cultivares, em 39 dos casos foi apontado como a cultivar mais distante (Quadro 1A). Há de se considerar esta grande divergência relativa no grupo avaliado para sugestão de cruzamentos entre este cultivar com os demais. Este fato é comprovado no dendrograma pelo Método de agrupamento UPGMA (Figura 2), no qual é possível visualizar claramente as cultivares do Grupo VII, bastante dissimilares dos outros grupos.

Segundo Falconer (1987) a variabilidade genética de uma população segregante depende da divergência genética entre os pais envolvidos no cruzamento. Mas, se o objetivo do programa é aumentar a produtividade, deve-se escolher, para cruzamentos, cultivares de boa performance “per se”, para rendimento de grãos e que apresentem maior distância genética ou que complementem alguma característica de interesse de um dos progenitores. Tal fato contribui, em razão do seu não-relacionamento, para o melhor conjunto de genes, os quais, após a recombinação, segregariam, possibilitando assim a obtenção de indivíduos superiores aos pais, refletindo uma boa capacidade de combinação.

No entanto, apesar de ser muito enfatizada a importância da divergência genética na escolha de genitores em programas de melhoramento por hibridação, ainda é discutível a relação entre a divergência de progenitores e o potencial produtivo em seus híbridos. Melo et al. (2001), em estudos com o milho, não evidenciaram relação entre divergência genética, medida pela distância de Mahalanobis, e a heterose para produtividade de grãos. Entretanto, Amaral Júnior et al. (1996) em tomate, Cruz (1990) em milho, verificaram uma relação positiva entre diversidade nos progenitores e heterose nos híbridos.

### **3.3.2. Análise de agrupamento**

#### **3.3.2.1. Método de Otimização de Tocher**

O agrupamento das cultivares pelo método de otimização de Tocher foi realizado, utilizando-se a distância generalizada de Mahalanobis, calculada a partir das distâncias genéticas entre os pares de cultivares (Anexo - Quadro 1A). Este método tem como princípio básico manter a homogeneidade dentro e heterogeneidade entre grupos.

O agrupamento pelo método de otimização de Tocher, possibilitou a reunião das cultivares em nove grupos distintos, discriminados da seguinte forma: Grupo I: 15,39, 3, 27; Grupo II: 24, 36, 12,10, 22, 34, 19, 7, 43, 31, 25, 13, 37, 1, 42, 30, 18, 6, 32, 8, 20; Grupo III: 2, 14, 38, 26; Grupo IV: 21, 45 e 3 ; grupo V: 11, 23 e 35; Grupo VI :16, 40, 28 e 4; Grupo VII: 17, 29, 41 e 5; Grupo VIII: 44 e Grupo XI: 9 (Quadro 10).

O padrão de distribuição de cultivares nos grupos, ou seja, com concentração de indivíduos no grupo II e os demais dispersos em oito grupos, evidencia a diversidade dos cultivares. No entanto, de modo geral, interessa aos melhoristas apenas as cultivares superiores em relação às características mais importantes e que apresentem divergência suficiente para gerar variabilidade nas populações segregantes.

Quadro 10 – Nos grupos com padrões de comportamentos similares estabelecidos pelo método de otimização de Tocher, com base em 11 caracteres avaliados em 45 cultivares de feijão do grupo preto, foi utilizada a distância generalizada de Mahalanobis ( $D^2$ )

<b>Grupo</b>	<b>Cultivares</b>
I	15, 39, 3, 27
II	24, 36, 12, 10, 22, 34, 19, 7, 43, 31, 25, 13, 37, 1, 42, 30, 18, 6, 32, 8, 20
III	2, 14, 38, 26
IV	21, 45, 33
V	11, 23, 35
VI	16, 40, 28, 4
VII	17, 29, 41, 5
VIII	44
IX	9

Neste raciocínio, as cultivares 6 - CFE 25 e 34 - CFE 100 e 43 – FT Nobre (Grupo II) destacaram-se, apresentando médias superiores em pelo menos seis das características estudadas (Quadro 8). Estas cultivares também se destacaram por apresentarem menor altura de plantas eretas, à semelhança da cultivar FT Nobre, a qual possui hábito de crescimento tipo II. Sendo assim, há o indicativo de cruzamentos entre estas cultivares com outras de grupos distintos, procurando desta maneira cultivares divergentes e com média alta em produtividade.

Da mesma forma, novamente as cultivares CFE 25 e CFE 100, ambas pertencentes ao Grupo II, com produção e peso de 500 grãos elevados, poderão ser levadas a um programa de cruzamento com cultivares do Grupo IV, divergentes e com médias das principais características superiores, em especial rendimento de grãos. De igual modo, a testemunha FT - Nobre, cultivar do Grupo Preto, mais cultivada no Sul do Brasil na década de 90 pode ser indicada para cruzamento com cultivares de outros grupos, procurando elevar produção e P500, bem como percentagem bruta, que assume importância na questão nutricional.

O Grupo IV, constituído das cultivares 21- CFE 89, 45 - Empasc 201 e 33 – CFE 129, apesar de apresentarem bons rendimentos de grãos (PROD), em outras características, como PB, P500 encontram-se em posições inferiores em relação ao grupo de cultivares avaliados. Por outro lado, no Grupo IX, constituído apenas pela cultivar 09 – CFE 61, apresenta bom teor de proteína, porém com baixa PROD, situação semelhante das cultivares 23 - CFE 118, 24 – CFE 115 e 25 - CFE 110. Nenhuma destas cultivares é interessante para programas de cruzamentos artificiais.

A cultivar Diamante Negro constituiu isoladamente o Grupo VIII, sendo, portanto, divergente em relação às demais, por apresentar elevada média para PROD, PB, menor DM, e baixo ALTP, o que representa menor tamanho de guia, indicativo de possuir porte ereto ou semi-ereto, apesar desta característica não ser avaliada diretamente neste estudo. Sendo assim, esta cultivar poderá participar de cruzamentos artificiais com outras cultivares de grupos distintos, de preferência também de média elevada para estas características, com perspectivas de gerar populações segregantes promissoras.

Portanto, considerando as cultivares melhoradas, testemunhas incluídas neste trabalho (Diamante Negro e FT Nobre), e as significativas distâncias em relação às cultivares tradicionais dos produtores, ressalta-se a importância destas últimas para os programas de melhoramento, pelo possível aporte de novas combinações gênicas que estas possam proporcionar àquelas. A distância entre as cultivares melhoradas e as tradicionais de outros grupos, sugere que a exploração de populações híbridas derivadas do inter cruzamento de seus integrantes poderá levar ao surgimento de interessantes recombinações, conforme já ressaltado anteriormente. Fato esse também observado em trabalho realizado no Sul do Brasil com feijões tradicionais e cultivares melhoradas (RODRIGUES, 2002).

Sendo assim, os indicativos para realização de cruzamentos artificiais entre as cultivares com maior divergência genética e com boa produtividade geram, em torno de 30 cruzamentos promissores, um número bem inferior ao número total de combinações possíveis entre as 45 cultivares avaliadas, que totaliza 990. Com isto, a utilização dos métodos preditivos para verificar a

divergência genética demonstra sua grande utilidade em programas de melhoramento, resultando na economia de tempo e recursos.

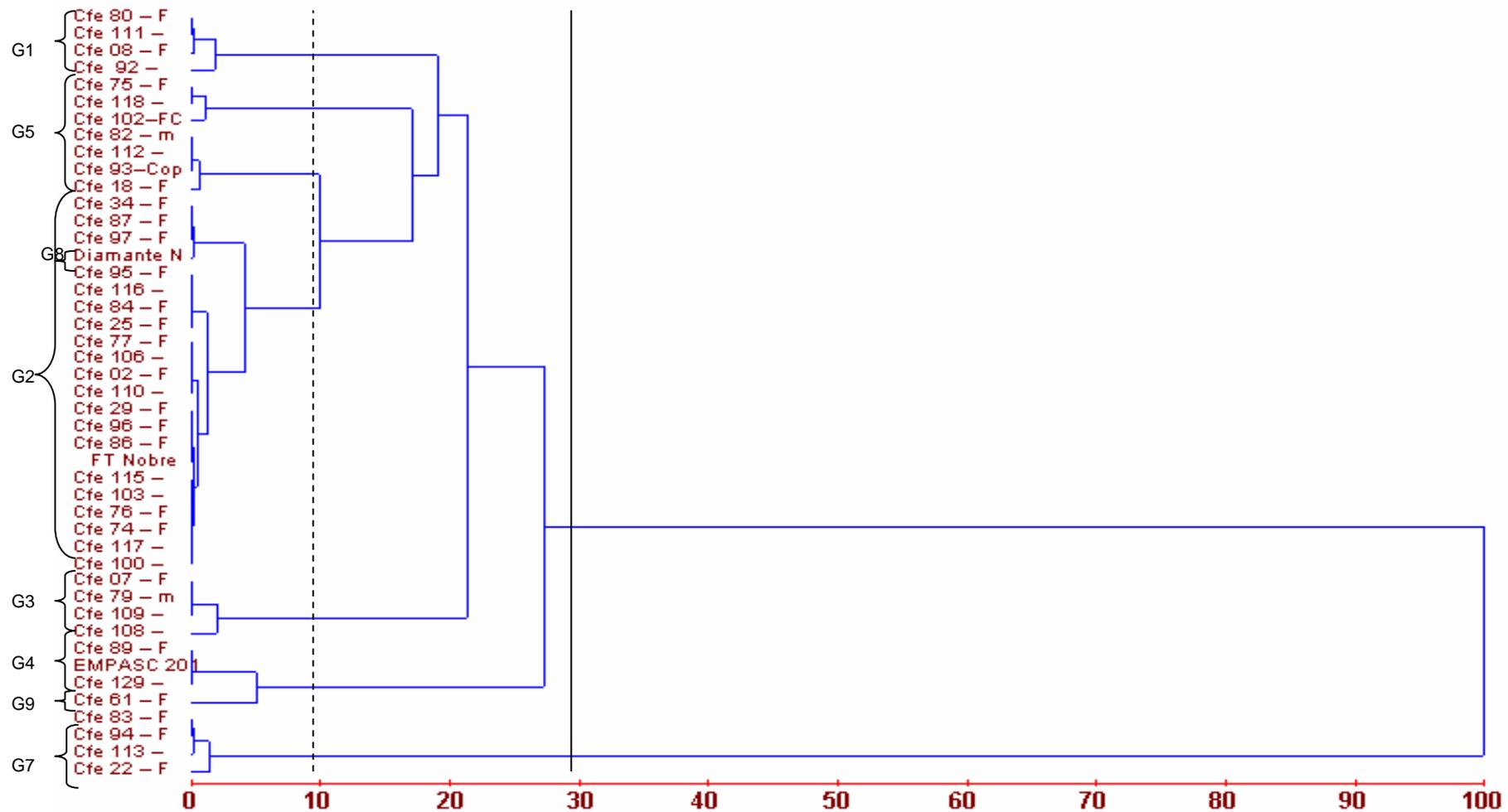
### **3.3.2.2. Método de agrupamento UPGMA**

Observa-se na Figura 2 que houve concordância na formação dos subgrupos com a metodologia de Tocher. Quando se utiliza uma corte contínua, no ponto correspondente a 30%, verifica-se a formação de dois subgrupos maiores, um representado pelo Subgrupo VII, através das cultivares 5 – CFE 22, 41 – CFE 113, 29 - CFE 94 e 17 – CFE 83 e outro Grupo formado visualmente pelos demais subgrupos na metodologia Tocher (Figura 2). O Subgrupo VII, significativamente distante dos demais grupos, poderá ter algumas de suas cultivares levadas a cruzamentos artificiais em um programa de melhoramento com boas perspectivas de gerar populações segregantes promissoras, já que poderá aliar divergência genética e média alta de rendimento e outras características agrônômicas de interesse.

Para visualizar os nove grupos gerados na metodologia Tocher, é necessário passar uma linha tracejada no ponto equivalente a 10% e ter-se-á, assim, sete grupos bem visíveis e as cultivares 44 – Empasc 201 e 9 – CFE 61 em posições intermediárias (Figura 2).

Com isto, verifica-se que, com a utilização dos métodos preditivos para verificar a divergência genética entre as cultivares tradicionais, possibilitou-se a indicação de cruzamentos artificiais entre cultivares mais divergentes e com melhor rendimento. Assim sendo, essas cultivares propiciaram com maior probabilidade de sucesso na constituição de um programa de melhoramento.

É possível, desta forma, reduzir o número de cruzamentos de 990 (número obtido ao combinar todos os possíveis pares entre 45 genótipos) para no máximo 20, o que resulta em economia de tempo e recursos para o programa de melhoramento.



**Figura 2.** Dendrograma construído a partir das distâncias generalizadas de Mahalanobis ( $D^2$ ), ligação média entre os grupos – UPGMA.

### 3.3.3. Componentes Principais e Importância Relativa dos Caracteres

A utilização destas técnicas em estudos sobre divergência genética consiste em resumir o conjunto de variáveis originais em poucos componentes, o que significa ter uma boa aproximação do comportamento dos indivíduos (progenitores, oriundos de um espaço n-dimensional (n= número de caracteres estudados)) em um espaço bidimensional ou tridimensional de fácil interpretação geométrica (CRUZ e REGAZZI, 1994).

Na análise da divergência genética, os quatro primeiros componentes principais explicaram 67,3% da variação (Quadro 11). Resultados semelhantes foram encontrados por Rodrigues et al. (2002) em estudos com cultivares tradicionais no Rio Grande do Sul, onde encontraram 69,8% da variância somente com os quatro primeiros componentes principais. Nos casos em que este limite não é atingido nos primeiros componentes, a análise é complementada com a dispersão gráfica em relação ao terceiro e ao quarto componente (CRUZ e REGAZZI, 1994).

Quadro 11 – Variância de cada componente principal e sua importância em relação à variância total. Chapecó, 2006

<b>Componente</b>	<b>Autovalor</b>	<b>Variância (%)</b>	<b>Variância acumulada (%)</b>
1	4,09	37,19	37,19
2	1,26	11,51	48,70
3	1,04	9,45	58,16
4	1,00	9,17	67,33
5	0,77	6,98	74,31
6	0,72	6,61	80,92

Outra informação importante que a técnica dos componentes principais proporciona, é a importância relativa dos caracteres, avaliada pela magnitude do coeficiente de ponderação desses caracteres a partir dos últimos componentes.

Baseado no princípio de que a importância dos componentes principais decresce do primeiro para o último, tem-se que os últimos componentes são responsáveis pela explicação de uma fração mínima da variância total disponível.

A variável que apresenta maior coeficiente de ponderação (elemento do autovetor) no componente de menor autovalor, é considerada de menor importância para explicar a variabilidade genética do material estudado, sendo, portanto, passível de descarte.

Adotando este procedimento, os caracteres Altura de plantas (ALTP), DM, PB% e FB% com maiores pesos em CP 7 (0.695) CP 1 ( 0.595), CP 10 (0.9858) e CP 11 (Quadro 12) foram os de menor importância.

Quadro 12 – Autovetores associados às características de feijão com os componentes principais (CP<sub>i</sub>)

Importância relativa das características	CP <sub>1</sub>	CP <sub>2</sub>	CP <sub>3</sub>	CP <sub>4</sub>	CP <sub>5</sub>	CP <sub>6</sub>	CP <sub>7</sub>	CP <sub>8</sub>	CP <sub>9</sub>	CP <sub>10</sub>	CP <sub>11</sub>
DM	-0,343	0,362	-0,308	0,137	-0,070	-0,202	0,393	-0,297	0,297	-0,364	0,355
PROD	-0,028	0,134	0,087	-0,564	0,640	-0,307	-0,268	-0,138	-0,002	-0,020	0,241
P500	-0,255	0,3601	-0,401	-0,035	0,301	0,505	0,145	0,327	-0,295	0,281	0,047
BAC	-0,431	-0,169	-0,230	-0,499	-0,389	-0,231	-0,083	0,447	0,2251	0,049	-0,132
ANTR	-0,074	-0,307	0,054	0,002	0,284	0,536	-0,057	0,014	0,716	-0,102	0,021
FOL	-0,118	-0,092	-0,319	0,544	0,401	-0,449	-0,208	0,189	0,152	0,101	-0,321
ALTP	-0,221	0,035	0,527	0,214	0,122	-0,045	0,054	0,591	-0,138	-0,421	0,242
NVP	0,450	-0,284	-0,519	0,015	-0,055	0,024	-0,216	0,232	-0,111	-0,309	<b>0,482*</b>
NSP	-0,048	-0,155	0,154	0,171	-0,069	-0,162	0,096	0,065	0,151	<b>0,695*</b>	0,607
PB	<b>0,595*</b>	0,441	0,036	-0,124	0,016	-0,146	0,310	0,375	0,385	0,088	-0,137

<sup>FB</sup>

Ordem das variáveis de maior peso nos últimos autovetores.

Variável 7, Altura de planta; Variável 1, Ciclo; Variável 10, Proteína; Variável 11, Fibra bruta.

De certa forma, este resultado é coerente com a pouca variabilidade observada para estes caracteres, os quais pelo teste de média Scott e Knott (1974) formaram apenas duas classes distintas com baixa amplitude de variação, conforme já enfatizado. No caso da Altura de plantas, sendo tal característica influenciada pelo ambiente, verificou-se uma estiagem no período vegetativo das plantas (Figura 1) que, apesar da irrigação suplementar, não possibilitou a plena expressão desta característica.

Este fato evidencia a importância da utilização de técnicas multivariadas (componentes principais) na identificação de caracteres que realmente devem ser avaliados com base em estudo prévio da sua contribuição para a variabilidade (PEREIRA, 1989; RODRIGUES, 2002).

Através das análises de componentes principais realizadas para as 11 características avaliadas neste grupo de cultivares (Figura 3), visualiza-se melhor o agrupamento das características correlacionadas.

Na Figura 3, está apresentada a direção das variáveis originais dentro de novos fatores baseados na análise de componentes principais das 24 cultivares de feijão do Grupo Preto. O respectivo gráfico projeta as características nos quadrantes, conforme a correlação entre elas. No primeiro quadrante (superior esquerdo), visualiza-se a projeção das características PROD, NSP e NVP, os quais são correlacionados.

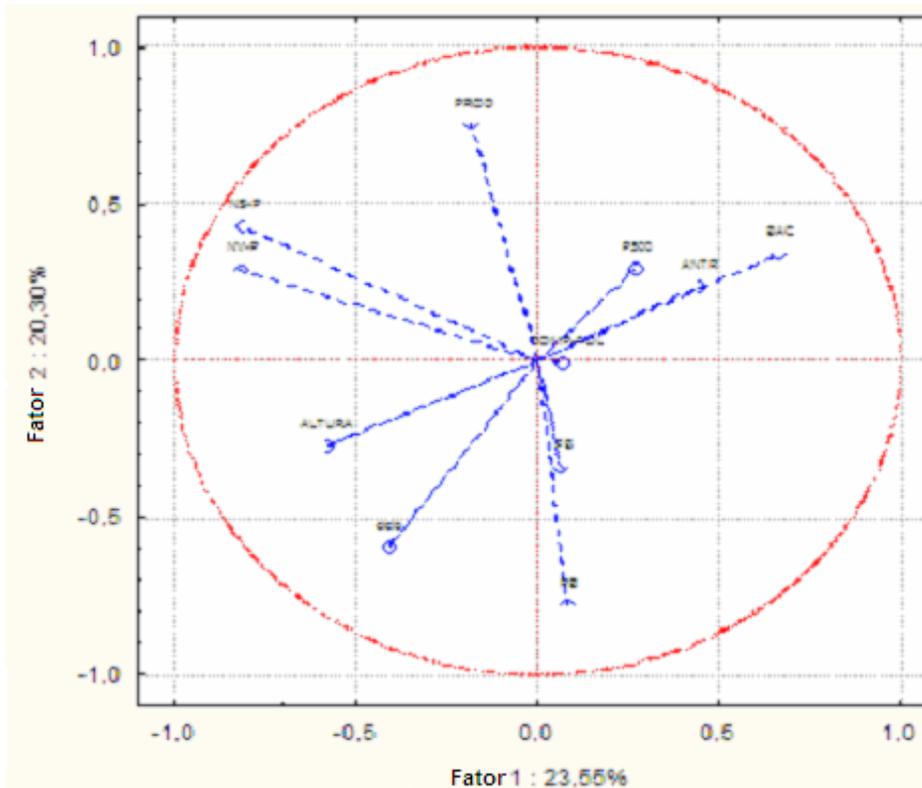


Figura 3 – Projeção das variáveis originais entre 45 cultivares de feijão do grupo Preto.

Por sua vez, a dispersão gráfica das cultivares (Figura 4) possibilita observar a localização das cultivares dentro dos novos fatores. Desta forma, verificou-se que as cultivares 01 – CFE 02, 35 – CFE 102, 7 – CFE 29, 29 – CFE 94, 11 – CFE 75 e 4 – CFE 18 se apresentam superiores em relação às características NSP, NVP, bem como em PROD. No quadrante superior, à direita, destacam-se as cultivares 6 – CFE 25 e 34 – CFE 100 que aliam superioridade em PROD e P500, características importantes, conforme já salientamos.

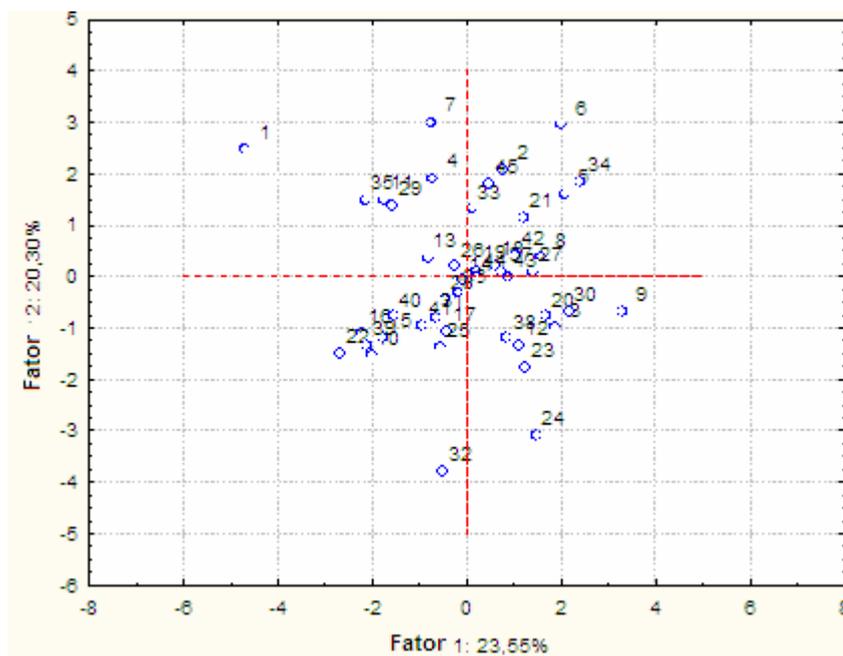


Figura 4 - Localização das 45 cultivares dentro dos novos fatores através da análise dos componentes principais.

Por outro lado, nos quadrantes inferiores, projetaram-se as cultivares 32 – CFE 97 e 24 – CFE 115 com maiores teores de PB% e FB%, características relevantes, uma vez que o mercado tem se tornado cada vez mais exigente na qualidade dos grãos. A cor, tamanho dos grãos, assim como suas qualidades culinárias e nutritivas, são atributos indispensáveis em qualquer nova linhagem ou cultivar a ser recomendada (RAMALHO, 2005).

#### 4. CONCLUSÕES

1. Constatou-se a existência de divergência genética entre as cultivares tradicionais e as testemunhas comerciais de feijão do Grupo Preto com o emprego da distância de Mahalanobis ( $D^2$ );

2. A maior divergência foi observada entre cultivares do Grupo VII, em especial a cultivar 5 CFE 22, que se apresentou mais divergente em relação aos demais.

3. Para compor programas de hibridação entre este grupo de cultivares, sugere-se cruzamento entre as cultivares do Grupo II, em especial CFE 25, CFE 100 e FT Nobre e aquelas do Grupo VII, destacando-se a cultivar CFE 22. Também é sugerido utilizar a cultivar Diamante Negro para cruzamentos com as cultivares já citadas, por ser a mais divergente e possuir uma das melhores médias em produtividade.

4. Com a utilização dos métodos preditivos, é possível reduzir o número total de cruzamentos biparentais entre as 45 cultivares, de 990 para no máximo 20, o que resulta em economia de recursos e moderação do tempo para o programa de melhoramento.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRASEM – Associação brasileira de produtores de sementes. Disponível em: <<http://www.abrasem.com.br/estatisticas/index.asp>>. Acesso em: 15 jan. 2006.

ADAMS, M.W. Basis of yield component compensation in crop plants with special reference to the field bean, *Phaseolus vulgaris* L. **Crop Science**, v.7, p.505-510, 1967.

AMARAL JÚNIOR, A.T. **Análise dialéctica de betacaroteno, vitamina C, sólidos solúveis e produção e variabilidade em cultivares de tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill.) via marcadores RAPD**. 1996. 198f. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1996.

CARNEIRO, J.C.S.; MINIM, V.P.R.; SOUZA JR, M.M. Perfil sensorial e aceitabilidade de cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.25, n.1, p.18-22, 2005.

CASAÑAS, F.; BOSCH, L.; PUJOLA, M.; SANCHEZ, E.; SORRIBAS, X.; BALDI, M., NUEZ, F. Characteristics of a common bean landrace (*Phaseolus vulgaris* L.) of great culinary value and selection of a comercial imbred line. **Journal of the Science of Food a Agriculture**, v.79, p.693-696, 1999.

CASTOLDI, F.L. **Análises das interrelações entre rendimento e diversas características agronômicas do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.)**. 1991. 73f. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1991.

CEOLIN, A.C.G. **Determinação da divergência genética em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) por meio de caracteres morfoagronômicos e marcadores moleculares RAPD**. 2003. 124f. Dissertação (Mestrado em Melhoramento Genético Vegetal) - Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2003.

COELHO, A.D.F.; CARDOSO, A.A.; CRUZ, C.D. Herdabilidades e correlações da produção do feijão e dos seus componentes primários, nas épocas de cultivo da primavera-verão e do verão-outono. **Ciência Rural**, v.32, n.2, p.211-216, 2002.

COLLICCHIO, E. **Associação entre o porte de planta do feijoeiro e o tamanho de grãos**. 1995. 123f. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1995.

CRUZ, C.D. Aplicação de algumas técnicas multivariadas no melhoramento de plantas. 1990. 188f. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Escola Superior de Agronomia Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1990

CRUZ, C.D. **Programa Genes: versão Windows; aplicativo computacional em genética e estatística**. Viçosa: Imprensa Universitária, 2001. 648p.

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

CRUZ, C.D.; REGAZZI, A.J. **Modelos Biométricos Aplicados ao Melhoramento Genético**. Viçosa: UFV, 1994. 390p.

DIAS, L.A.S. Análises multidimensionais. In: Eletroforese de isoenzimas e proteínas afins: fundamentos e aplicações em plantas e microorganismos. ALFENAS, A.C. Viçosa: Ed. UFV, 574 p. 1998.

ELIAS, H.T.; HEMP, S.; FLESC, R.D. Ganho genético na produtividade das cultivares de feijão recomendadas para Santa Catarina – 1979/1999. In: REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO. Anais..Goiânia: Embrapa, 1999. p.295-297.

EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. – Brasília: Embrapa Produção de Informação Rio de Janeiro: Embrapa solos, 1999. 412p.

ENDER, M.; GUIDOLIN, A.F.; SANGOI, L.; SANTO, J.P; TSAI, S.M; LECH, V. A.; DUARTE, I.A. Coleta e estudo da variabilidade genética de genótipos de feijão cultivadas no Planalto Catarinense. **Resumos** In: Reunião Técnica Catarinense de Milho e Feijão; 1. 1998, Chapecó: Epagri, 1998. p. 83-85.

EPAGRI, Avaliação de cultivares para o Estado de Santa Catarina 2003/2004. Florianópolis, 2004. 140 p (EPAGRI. Boletim Técnico, 119).

FALCONER, D.S. **Introdução à genética quantitativa**. Traduzido por SILVA, M.A.; SILVA, J.C. Viçosa: UFV, 1987. 279p.

FERREIRA, M.E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares na análise genética**. Brasília: Embrapa-Cenargen, 1995, 220p.

FONSECA JUNIOR, N.S. et al. Estimativa do ganho genético para o feijão do grupo preto no Paraná. In: REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO, 5. 1996, Goiânia. Anais... Goiânia: EMBRAPA, 1996. P. 295-297.

FONSECA, J.R.; SILVA, H.T. Identificação de duplicidades de acessos de feijão por meio de técnicas multivariadas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.34, n.3, p.409-414, 1999.

GONÇALVES, M. C. **Correlações Genotípicas, Fenotípicas e de Ambiente em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.)**. 1979. 42f. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1979.

IPGRI. **Descritores para *Phaseolus vulgaris* L.** International Plant Genetic Resorce Institute, Rome. 2001. 45 p.

LEMOS, L.B.; OLIVEIRA, R.S.; PALOMINO, E.C. Características agronômicas e tecnológicas de cultivares de feijão do grupo comercial Carioca. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.39, p.319-326, 2004.

LONDERO, P.M.G.; RIBEIRO, N.D.; FILHO, A.C.; RODRIGUES, J.A.; POERSCH, N.L.; TRENTIN, M. Variabilidade genética para teores de fibra e rendimento de grãos em populações de feijão. In: Congresso Nacional de

Pesquisa de Feijão (8.: 2005:Goiânia, GO). Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2005. p. 593-596.

MARQUES JUNIOR, O.G.; RAMALHO, M.A.P.; MENDONÇA, H.A. . Efeito de parcelas adjacentes na avaliação de alguns caracteres em cultivares de feijão. **Bragantia**, v.56, p.199-206, 1997.

MELO, W.M.C.; PINHO, R.G.V.; FERREIRA, D.F. Capacidade combinatória e divergência genética em híbridos comerciais de milho. *Ciência e Agrotécnica* v.25, p.821-830, 2001.

MIRJANA, V. Principal Component Analysis (PCA) of Dry Bean Collection. **Annual Report Bean Improvement Cooperative**. v.48, p.16-17, 2005.

OSBORN, T.C. Genetic control of bean seed protein. *CRC. Critical Review. Plant Science*, v.7, p.93-116, 1988.

PEREIRA, A.V. **Utilização de análise multivariada na caracterização de germoplasma de mandioca** (*Manihot esculenta* Crantz). 1989. 180f. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Escola Superior de Agronomia Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1989.

PIMENTEL-GOMES, F. **Curso de Estatística Experimental**. 13.ed. Piracicaba: ESALQ/USP, 1990. 467p.

RAMALHO, M.A.P. Contribuição do melhoramento genético vegetal na produção de grãos. **Resumos expandidos...** In: REUNIÃO TÉCNICA CATARINENSE DE MILHO E FEIJÃO, 5.,. Chapecó, SC: Epagri/Cepaf, p.19-26. 2005.

RAMALHO, M.A.P.; ABREU, A. de F.B.; CARNEIRO, J.E. de S. Cultivares. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.25, n.223, p.21-32, 2004a.

RAMALHO, M.A.P.; FURTADO, D.F.; OLIVEIRA, A.C. A experimentação em genética e melhoramento de plantas. Lavras, UFLA. 326 p. 2000.

RIBEIRO, N.; STORCK, L. Escolha de genitores de feijoeiro por meio da dissimilaridade genética. **Revista Brasileira de Agrociência**, v.8, n.2, p.89-95, 2002.

RIBEIRO, N.D.; MELLO, R.M.; DALLA COSTA, R.; SLUSSZ, T. Correlações genéticas de caracteres agromorfológicos e suas implicações na seleção de genótipos de feijão carioca. **Revista Brasileira de Agrociências**, Pelotas, v.7, n.2, p.93-99, 2001.

RIBEIRO, N.D.; POSSEBON, S.B.; STORCK, L. Progresso genético em caracteres agrônômicos no melhoramento do feijoeiro. **Ciência Rural**, v.33, p.629-633, 2003.

RODIÑO, A.P.; SANTALLA, M.; MONTERO, I.; CASQUERO, P.A. DE RON, A.M. Diversity of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) germplasm from Portugal. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v.48, p.409-417, 2001.

RODRIGUES, L.S.; ANTUNES, I. F.; TEIXEIRA, M. G.; SILVA, J.B. Divergência genética entre cultivares locais e cultivares melhoradas de feijão. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.37, p.1275-1284, 2002.

SCHWARTZ, H.F.; PASTOR-CORRALES, M.A. Bean production problems in the tropics. 2<sup>nd</sup> ed. CIAT, Cali, Colombia. 1989.

SCOTT, A.J.; KNOTT, M.A. Cluster analysis method for grouping means in the analysis of variance. **Biometrics**, v.30, p.507-512, 1974.

SILVA, D.J. **Análise de alimentos (métodos químicos e biológicos)**. 2.ed. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa. 1990. 256p.

SILVA, V.R.; IACHAN, A. Proteínas de Variedades Brasileiras de Feijão (*P. vulgaris*). I- Quantificação e Fracionamento das Proteínas. **Revista Brasileira de Tecnologia**, v.6, p.133-141, 1975.

SINGH, S. Patterns of variation in cultivated common bean (*Phaseolus vulgaris*, Fabaceae). **Economic Botany**, v.43, n.1, p.39-57, 1989.

SNEATH, P.H.; SOKAL, R.R. **Numerical taxonomy: The principles and practice of numerical taxonomy**. San Francisco: W.H. Freeman, 1973. 573 p.

VAN-SCHOONHOVEN, A.; PASTOR-CORRALES, M.A. **Sistema estandar para la evaluación de germoplasma de frijol**. Cali: CIAT, 1987. 56p.

VICTORIA, F.R.B.; TEIXEIRA, J. Necessidades hídricas das culturas do milho e feijão em Chapecó/SC. **Resumos** In: Reunião Técnica Catarinense de Milho e Feijão; 1. Chapecó: Epagri, 1998. p. 63- 68.

VIDIGAL FILHO, P.S.; ROCHA, A.B.; HAMMERSCHMIDT, R.; KIRK, W.W. Total soluble amino acids and protein content of landrace common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivars collected in Paraná State, Brasil. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, v.46, p.61-62. 2003.

ZIMMERMANN, M.J.O; CARNEIRO, J.E.S.; PELOSO, M.J.D.; COSTA, J.G.C.; RAVA, C.A.; ARTORATO, A.; PEREIRA, P.A.A. Melhoramento genético e cultivares. In: ARAUJO, S.R. et al. (eds.). **Cultura do feijoeiro comum no Brasil**. Piracicaba: POTAFÓS, 1996. p.223-273.

## **CAPÍTULO 2: DIVERGÊNCIA GENÉTICA EM CULTIVARES DE FEIJÃO (*Phaseolus vulgaris* L.) COLETADOS NO ESTADO DE SANTA CATARINA, USANDO MARCADORES MOLECULARES RAPD**

### **RESUMO**

Este trabalho teve como objetivo estimar a divergência genética entre cultivares de feijão do grupo comercial Preto, utilizando-se seis primers para amplificar fragmentos de DNA pela reação de polimerização em cadeia (PCR), sendo gerados 75 locos RAPD. As estimativas das distâncias genéticas foram feitas com base na distância no complemento aritmético do índice de Jaccard, a qual fora calculada a partir de uma matriz binária de presença e ausência de bandas. Os métodos Tocher e UPGMA agruparam as 45 cultivares em 13 grupos. As cultivares melhoradas foram alocadas em distintos grupos daqueles em que se agruparam as cultivares tradicionais pelo UPGMA. Isto foi confirmado pela projeção das distâncias genéticas no plano bidimensional, onde o primeiro e o segundo maior grupo reuniram as cultivares tradicionais. Os resultados das análises de agrupamento, com base em marcadores RAPD, demonstraram ser eficientes em alocar as cultivares tradicionais em grupos distintos do grupo que conteve as cultivares melhoradas. As cultivares FT Nobre, Empasc 201, Diamante Negro e CFE 113 foram as mais similares em relação às demais cultivares. A cultivar mais divergente foi a CFE 34 em relação às cultivares Diamante Negro, FT Nobre, Empasc 201 e CFE 113. Os resultados obtidos, usando marcadores moleculares RAPD, foram parcialmente similares aos obtidos pelo estudo de características morfoagronômica, sendo ambos eficientes em alocar em diferentes grupos as cultivares melhoradas e as tradicionais, demonstrando que existe suficiente variabilidade genética para ser explorada em programas de melhoramento para obtenção de novas cultivares com grão do tipo preto.

## ABSTRACT

The objective of this work was to estimate the genetic divergence among bean cultivars of Black commercial group using six primers to amplify DNA fragments through polymerization chain reaction (PCR), and then, were generated 75 RAPD loci. The genetic distance estimative were made based on arithmetic complement of Jaccard index and was calculated from a binary matrix of presence or absence of bands. The clustering of 45 genotypes, based on the Tocher's and UPGMA's methods, separated the genotypes in 13 groups, thus, the better cultivars could be allocated in distinguished groups from ones where the traditional cultivars were. This fact was confirmed by the projection of genetic distance on the bidimensional plan, where the first and second biggest clustering grouped together the traditional cultivars. The results of clustering analyses based on RAPD markers demonstrated to be efficient to allocate the traditional cultivars in distinguished groups from the ones which contained the better cultivars. The cultivars FT Nobre, Empasc 201, Diamante Negro and CFE 113 were the most similar in relation to all the others genotypes. The most divergent cultivar was CFE 34 in relation to the cultivars Diamante Negro, FT Nobre, Empasc 201 and CFE 113. The results obtained using RAPD molecular markers were partially similar to the ones gotten by morph agronomic characteristics studying, being both of them efficient to allocate in different groups the better and the traditional cultivars. Therefore, this fact demonstrated the existence of enough genetic variability to be explored in breeding programs to obtain new cultivars with grain type black.

## 1. INTRODUÇÃO

O sucesso da produção agrícola depende fortemente do uso de cultivar com desempenho superior e adaptado às regiões de cultivo. A inexistência de materiais genéticos superiores restringe a possibilidade de se obter alta produtividade e qualidade do produto. Em qualquer programa de melhoramento, a coleta de germoplasma é indispensável, pois coloca à disposição dos melhoristas ampla variabilidade genética (FONSECA e SILVA, 1999).

O melhoramento de plantas tem papel fundamental no desenvolvimento da agricultura, gerando novas cultivares em espécie de interesse econômico. O aumento na eficiência de seleção, o melhor conhecimento e caracterização de germoplasma e a maximização dos ganhos genéticos têm sido objetivos de melhoristas de plantas do mundo inteiro, advindo daí o interesse em tecnologias, como as de marcadores moleculares de DNA (MILACH, 2000).

A introdução da técnica da reação em cadeia da polimerase PCR (Polimerase Chain Reaction) revolucionou os métodos tradicionais de obtenção de marcadores moleculares em nível de DNA. Por se basear nas propriedades de replicação do DNA, o que permite maior facilidade, rapidez e sensibilidade na detecção dos fragmentos marcadores, a técnica PCR alcançou uso extenso nas diferentes áreas da biologia e agronomia (FERREIRA e GRATTAPAGLIA, 1995).

Com base no PCR, foi desenvolvida uma nova técnica para gerar marcadores moleculares; trata-se do RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA). Ao contrário do PCR, “primers” de seqüência aleatória são utilizados pela técnica RAPD e apenas um é empregado em cada reação realizada pela *Taq polimerase* (TINGEY et al., 1992).

Os marcadores RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) têm sido amplamente utilizados para determinar a divergência genética entre genótipos de feijão (VASCONCELOS, 1994; VILARINHOS et al., 1995; BEEBE et al., 2000; GARCIA, 2002; AMARUL ISLAM et al., 2004).

A herança da resistência do feijoeiro à mancha angular e identificação de marcador RAPD, ligado ao gene de resistência, foi realizada por Ferreira

(1998). Neste estudo, foram construídos *bulks* de DNA de indivíduos F<sub>2</sub> resistentes e suscetíveis à raça 63.39 do patógeno. Esses *bulks* foram amplificados com 400 *primers*. A amplificação dos *bulks* com o *primer* OPE04 gerou um fragmento com cerca de 500 pb que co-segregou com o gene de resistência. Na análise de co-segregação, verificou-se que esse marcador está ligado ao gene de resistência à raça 63.39 de *P. griseola* a uma distância de 5,8 cM.

Os marcadores moleculares têm demonstrado eficácia na avaliação da variabilidade genética dentro e entre populações de plantas, como também na elucidação de parentescos entre acessos dentro de uma espécie. Nos programas de melhoramento, a informação da diversidade genética dentro de uma espécie é essencial. É particularmente útil na caracterização individual dos acessos das cultivares e como guia na escolha dos pais em programas de cruzamento (LOARCE et al., 1996). Mais recentemente, os marcadores estão sendo utilizados na seleção assistida, visando ao desenvolvimento de plantas resistentes a doenças (ALZATE-MARIN et al., 2005).

O presente trabalho foi realizado com o objetivo principal de verificar a divergência genética determinada por intermédio de marcadores moleculares RAPD em 45 cultivares de feijões tradicionais, do grupo comercial feijão preto, coletados em Santa Catarina. Foram utilizadas a distância genética de Jaccard, as técnicas de agrupamento UPGMA e as de otimização de Tocher.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1. Material Genético**

As cultivares utilizadas neste trabalho foram obtidas, através de coletas realizadas ao longo dos últimos 10 anos, pela Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural do Estado de Santa Catarina. Estão listadas no Quadro 1 (Capítulo 1).

### **2.2. Obtenção dos Marcadores RAPD**

#### **2.2.1. Extração de DNA genômico**

O trabalho foi realizado no Laboratório do Nupagri e no Centro Tecnológico e Irrigação do Departamento de Agronomia da Universidade Estadual de Maringá.

Aproximadamente seis dias após a emergência das plântulas das 45 cultivares de feijão preto, procedeu-se a coleta de folíolos da folha primária, os quais foram imediatamente armazenados à temperatura de -20°C.

A extração de DNA foi realizada conforme metodologia proposta por Edwards et al. (1991), porém com modificações. Cada amostra foi transferida para microtubos (tipo eppendorf 1,5 mL), onde foram adicionados 400 µL do tampão de extração, o qual continha: CTAB a 5 %; betamercaptoetanol a 0,4 %; 1,4 M NaCl; 20 mM EDTA; 100 mM Tris; HCl e pH 8,0; e 1,0 % de polivinilpirrolidone.

Os “eppendorfs” foram dispostos em suportes de isopor e incubados em banho-maria, a 65°C durante 30 minutos, procedendo-se a uma leve agitação por três vezes durante o tempo de incubação. Concluída a incubação, aguardou-se o resfriamento das amostras a temperatura ambiente e efetuou-se a desproteinação, por meio da adição de clorofórmio, álcool isoamílico na proporção de 24:1, seguindo-se com uma agitação suave dos tubos, por inversão, durante cinco minutos, com posterior centrifugação, também por

cinco minutos, a 12.000 rpm, em centrífuga Eppendorf, modelo 5415C. O sobrenadante foi submetido à nova desproteinação e o sobrenadante final fora transferido para outro tubo de “Eppendorf”, adicionando-se ao final 2/3 do volume de etanol absoluto gelado, para promover a precipitação dos ácidos nucléicos.

Os ácidos nucléicos foram recolhidos por centrifugação, a 3.500 rpm, por cinco minutos, lavados com etanol 70 %, secos e ressuspensos em tampão TE (10 mM Tris HCl e pH 8,0; e 1 mM EDTA). Após a ressuspensão dos ácidos nucléicos, adicionou-se RNase A na concentração de 10 mg/mL, incubando as amostras por 30 minutos, a 37°C. O DNA foi precipitado pela adição de dois volumes de etanol absoluto gelado, procedendo-se a uma centrifugação por cinco minutos, a 6.000 rpm, para separá-lo da fase aquosa. O DNA foi lavado com etanol a 70 %, seco, ressuspenso com TE e, finalmente, quantificado com base em um gel padrão, de concentração conhecida, obtido pela reflexão da luz ultravioleta sobre o brometo de etídio, verificando-se que cada amostra se apresentava na concentração de 100 ng/μL. Após essas etapas, foram preparadas amostras de trabalho por meio da diluição do DNA para 10 ng.

### **2.2.2 Amplificação do DNA, Separação dos Fragmentos por Eletroforese e Detecção das Bandas**

Os DNAs extraídos das 45 cultivares foram utilizados como molde para reações de amplificação, onde cada reação (25 μL) continha: 50 ng de DNA; 100 μM de cada um dos desoxirribonucleotídeos (dATP, dCTP, dGTP e dTTP); 1,7 mM de MgCl<sub>2</sub>; 10mM de Tris-HCl, pH 8,3; 50 mM de KCl; 0,4 μM do *primer* (Operon Technologies) e 1 unidade de Taq polimerase (Williams et al., 1990).

As reações de amplificação foram conduzidas em um termociclador Techne modelo TC-412 programado para uma etapa inicial de três ciclos composta por desnaturação a 94°C por 1 min., ligação ao DNA a 35°C por 1 min., alongação da fita a 72°C por 2 min., seguidos por 34 ciclos a 94°C por 10s, 40°C por 20s e 72°C por 2 min.; sendo finalizado com um ciclo a 72°C por 5 minutos. Os oligonucleotídeos utilizados, num total de seis, foram escolhidos em uma lista de 30 *primers* testados previamente na cultura do feijão. Estes

*primers* foram adquiridos da “Operon Technologies” (Inc., Alameda, CA., USA) e encontram-se descritos no Quadro 1B, com suas respectivas seqüências de bases.

Concluída a amplificação os fragmentos de DNA foram fracionados em gel de agarose 1,5% diluído em tampão TAE 1X (2M Tris-acetato, 0,5 M EDTA, pH 8,0), contendo brometo de etídio (0,02%) em cuba de eletroforese com o mesmo tampão. Os géis foram submetidos a um campo elétrico de 3 V.cm<sup>-1</sup>, até que o DNA tivesse migrado o suficiente, o que levava em torno de 4 horas. As bandas dos géis foram visualizadas sob luz UV e fotografadas com o fotossistema Eagle Eye (Stratagene, La Jolla, CA, USA). Utilizou-se como padrão de tamanho o DNA “ladder” de 100 bp.

Quadro 1B - Relação dos primers (oligonucleotídeos) utilizados e suas respectivas seqüências de bases.

<b>Primer</b>	<b>Seqüências (5' – 3')</b>
OPA -18	“AGGTGACCGT”
OPH -13	“GACGCCACAC”
OPAA -3	“TTAGCGCCCC”
OPF -6	“GGGAATTCGG”
OPE-4	“GTGACATGCC”
OPG -19	“GTCAGGGCAA”

### 2.3. Análise estatística dos marcadores RAPD

O estudo da diversidade genética entre as cultivares foi avaliado por meio de informações obtidas de análises moleculares, utilizando marcadores RAPD.

A utilização de um coeficiente de similaridade apresenta como expectativa de representar a relação linear entre dois itens avaliados por um conjunto comum de *p* variáveis. Esses coeficientes são calculados a partir de variáveis binárias, representando presença e ausência de marcas (bandas), codificadas em **0** e **1**. Portanto, a comparação de duas cultivares possibilita a

construção de uma tabela 2 x 2 com formato de contingência, utilizando-se das freqüências de bandas observadas no zimograma.

O índice de Jaccard exclui a coincidência do tipo “0-0” como fator de similaridade, sendo apenas considerada a coincidência do tipo “1-1” na consideração da similaridade entre dois acessos, admitindo que esta coincidência seja pouco esperada em certos estudos, contudo ao ser encontrada, deve ser ponderada por um peso mais elevado, no caso igual a 2 (CRUZ e CARNEIRO, 2003). Com base nesses valores, as medidas de dissimilaridade podem ser obtidas utilizando-se do coeficiente de Jaccard:

$$s_{ii'} = \frac{a}{a+b+c}$$

em que:

sii: similaridade entre as cultivares i e i’;

a: valor que quantifica o número de coincidência do tipo 1-1 para cada par de cultivares;

b: valor que quantifica o número de discordância do tipo 1-0 para cada par de cultivares;

c: valor que quantifica o número de discordância do tipo 0-1 para cada par de cultivares.

Ao contrário de outros índices, o de Jaccard presta-se melhor para comparar populações dentro da mesma espécie, em que as concordâncias são mais freqüentes (Dias, 1998).

Como o coeficiente de Jaccard é uma medida de similaridade, é necessário, para a análise de agrupamento, efetuar o uso de medidas de dissimilaridade expresso pelo complemento aritmético, o qual é dado por:

$$d_{ii'} = 1 - s_{ii'}$$

A partir da matriz de dissimilaridade binária, foram realizados os agrupamentos dos acessos tradicionais pelos métodos Tocher e UPGMA, através do emprego dos recursos computacionais do programa Genes (CRUZ, 2001).

As correlações de Pearson e de Spearman foram utilizadas para verificar a relação entre as estimativas da divergência genética, obtida dos marcadores RAPD (coeficiente de Jaccard) e as conseguidas a partir dos caracteres morfoagronômicos (distância de Mahalanobis), utilizando o aplicativo computacional em genética e melhoramento Genes (Cruz, 2001).

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1. Reações RAPD

A divergência genética foi estudada mediante o emprego de seis iniciadores da Operon Technologies, dos quais todos eles geraram pelo menos uma banda polimórfica entre as cultivares (Quadro 2B). Estes seis iniciadores geraram 75 produtos de amplificação (bandas) com uma média de 12,5 bandas por iniciador. Destas bandas, 38 foram polimórficas (média de 6,3 bandas por iniciador). Conforme apresentado no Quadro 2B, os iniciadores apresentaram amplificações de duas a oito bandas, com tamanhos variando de 350 a 2050 pares de base (pb). Resultados semelhantes a estes foram obtidos em análise da variabilidade genética em feijoeiro por Briand et al. (1998) e Vasconcelos (1994).

Os marcadores RAPD foram utilizados tanto para avaliar a variabilidade genética, bem como para detectar marcadores moleculares ligados a genes de resistência nas cultivares em estudo. Segundo Alzate-Marin et al. (1999), o marcador molecular RAPD, ligado ao gene *Co-6* de resistência à antracnose, está presente em cultivares tradicionais utilizadas pelos agricultores.

Quadro 2B – Relação dos oligonucleotídeos utilizados, respectivas freqüências de bases, número de bandas polimórficas, tamanho de fragmentos e marcas para resistência a doenças

Primer	Seqüência (5'- 3' )	Nº de fragmentos	Nº fragmentos polimórficos	Faixa de Tamanho dos Fragmentos (pb)	Marcas para genes de resistência à antracnose, mancha angular e bacteriose (pb)
OPA -18	“AGGTGACCGT”	12	6	350 - 1500	1.300
OPH -13	“GACGCCACAC”	17	8	1050 - 1800	300
OPAA -3	“TTAGCGCCCC”	12	6	450 - 1250	1.110
OPF-06	“GGGAATTCGG”	11	5	400 - 2000	350
OPE – 4	“GTGACATGCC”	6	4	550 - 2050	500
OPG -19	“GTCAGGGCAA”	17	9	500 -1500	1.800

### 3.2. Avaliação da divergência genética

A partir das 75 bandas RAPD obtidas, foi estimada a matriz de distância genética de Jaccard, a qual foi utilizada para a obtenção dos grupos pelos métodos de Tocher e UPGMA.

O agrupamento pelo método de Tocher permitiu visualizar com mais facilidade o relacionamento entre as cultivares.

O Quadro 3B apresenta os resultados de agrupamentos obtidos pelo método de Tocher, os quais propiciaram a formação de 13 grupos. Os grupos I e II concentraram a maioria das cultivares tradicionais.

Os grupos VI até o XIII, foram formados por apenas uma cultivar. Este fato demonstra a presença de ampla variabilidade genética nas cultivares de feijões pretos cultivados no Estado de Santa Catarina. A utilização do coeficiente de similaridade, método de Jaccard, permitiu estimar as distâncias genéticas entre os pares das cultivares avaliadas. Similarmente, aconteceu com pesquisas conduzidas por Vilarinhos et al. (1995), Duarte et al. (1999), Beebe et al. (2000) e Emigdyo (2003), para avaliar a divergência genética na cultura do feijoeiro. Utilizando marcadores RAPD, revelaram a presença de variabilidade genética entre as cultivares avaliadas. Segundo Dias (1998), o

método complemento do índice de Jaccard tem se mostrado mais eficiente que outros métodos, para comparar populações dentro da mesma espécie em que as concordâncias são mais freqüentes.

Conforme a análise de distância entre pares de cultivares pelo método de Jaccard, observou-se que os pares das cultivares próximas foram: CFE 102 e CFE 111; CFE 102 e CFE 113; CFE 102 e CFE 116; CFE 100 e CFE 102 e CFE 93 e CFE 97. Estas cultivares que apresentaram distâncias próximas de zero, encontram-se alocadas no mesmo Grupo I. Além destas cultivares do Grupo I, as cultivares alocadas no Grupo II também apresentaram distâncias próximas de zero, os pares de cultivares CFE 74 e CFE 75; CFE 89 e CFE 96; CFE 84 e CFE 89, pertencentes ao Grupo II, apresentaram-se relacionados geneticamente, devido à fundamentação do método de agrupamento de Tocher, o qual tem como princípio básico manter a homogeneidade dentro, e heterogeneidade entre grupos.

De acordo com o método UPGMA, as cultivares que se apresentaram mais dissimilares foram: CFE 34 em relação as cultivares Diamante Negro, FT Nobre, Empasc 201 e CFE 113. Por sua vez, as cultivares mais semelhantes foram FT Nobre, Diamante Negro, Empasc 201 e CFE 113 (Figura 1). Estes resultados demonstram que o estudo da divergência genética por meio de marcadores RAPD foi eficiente em agrupar as cultivares tradicionais e melhoradas em grupos distintos e entre estas. De acordo com Vilarinhos et al. (1995), a utilização de marcadores moleculares RAPD foi eficiente em distinguir feijões pertencentes ao grupo gênico andino dos de origem Mesoamericana, alocando-os em distintos grupos pelos Métodos de Tocher. Por sua vez, Duarte et al. (1999), utilizando marcadores moleculares RAPD na determinação da divergência genética entre cultivares de feijão de diferentes raças, conseguiu eficiência na separação das cultivares, de acordo com os centros de domesticação. Contudo, com o estreito relacionamento genético entre as cultivares de feijão do grupo comercial preto, assim como a dificuldade de efetuar grande número de cruzamentos em espécies autógamas, sugere a necessidade de cruzar cultivares que apresentem grande variabilidade genética. Portanto, na escolha de progenitores para compor programas de

hibridação, procura-se escolher os mais divergentes, ou seja, os que apresentam distâncias maiores entre si.

Quadro 3B – Grupos com padrões de comportamento similares estabelecidos pelo método de otimização de Tocher, com base em 11 caracteres avaliados em 45 cultivares de feijão do grupo preto, utilizando a distância de Jaccard

---

<b>Grupo</b>	<b>Cultivares</b>
I	10, 11, 9, 15, 16, 20, 18, 19, 14, 21, 31, 12, 7
II	28, 32, 29, 25, 35, 34, 42, 36, 38, 33, 39, 41, 23, 26, 44, 22
III	2, 5, 4, 3
IV	13 e 43
V	1 e 8
VI	27
VII	17
VIII	6
IX	24
X	37
XI	45
XII	30
XIII	40

---

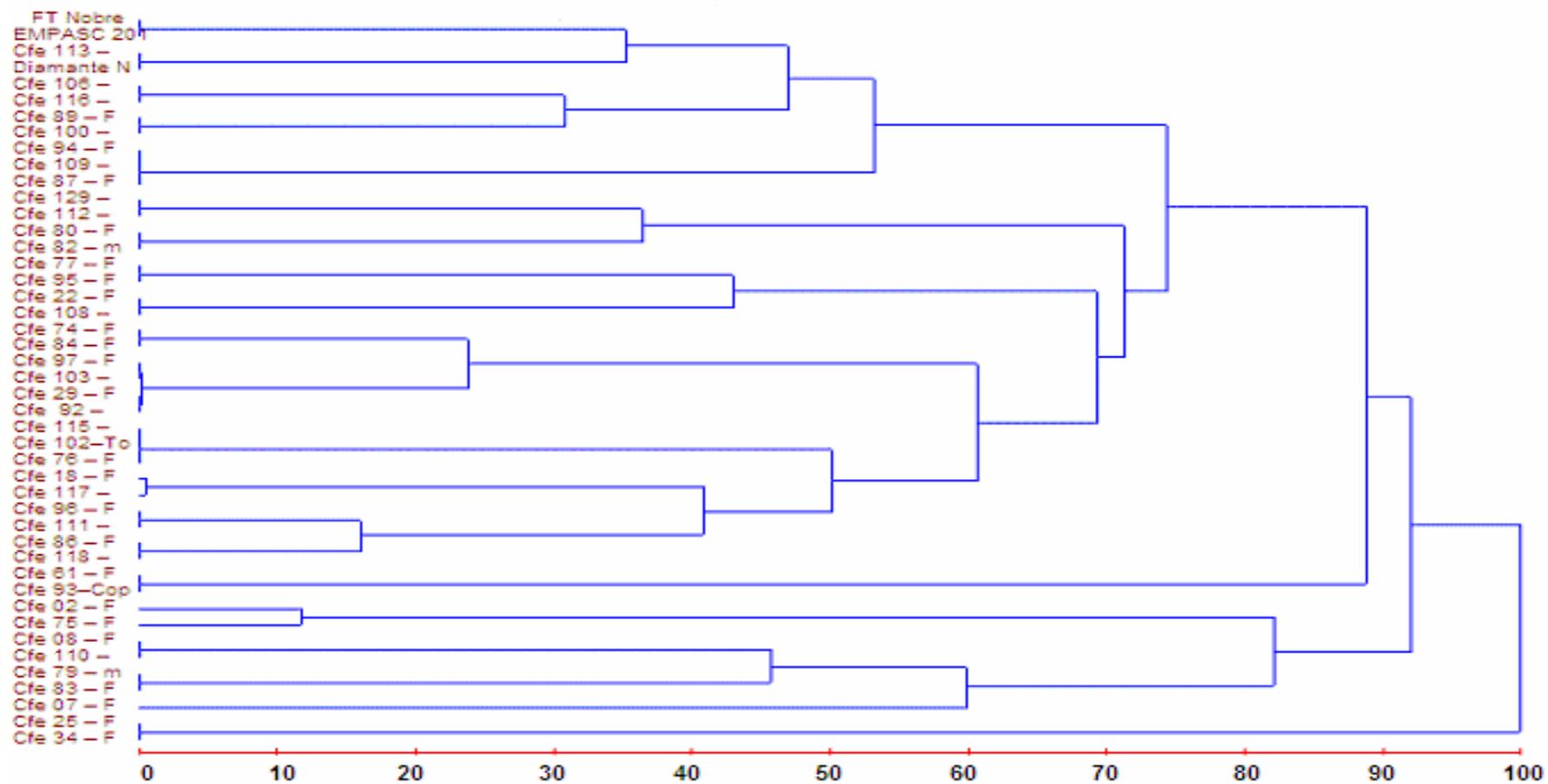


Figura 1B. Dendrograma UPGMA das 45 cultivares de feijão do grupo preto, construído a partir das distâncias de Jaccard, baseado nos seis primers RAPD.

### 3.3. Identificação de cultivares com genes para resistência a Antracnose, Mancha angular e Bacteriose via Marcadores RAPD

Marcadores RAPD ligados a genes de resistência têm sido identificados, estando disponíveis para a utilização no desenvolvimento de cultivares resistentes a doenças do feijão, tais como ferrugem (ALZATE-MARIN et al., 1997), a antracnose (FALEIRO et al., 2003; KELLY e VALLEJO, 2004), a mancha angular (FERREIRA, 1998; BUSOGORO et al., 1999) e a bacteriose (MARINGONI et al., 1995).

A identificação de cultivares que possuam genes associados à resistência do feijoeiro, às raças de antracnose (*Colletotrichum lindemuthianum*), à mancha angular (*Phaeoisariopsis griseola* (Sacc.) Fer.) e ao crestamento bacteriano (*Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* (Smith) Dye) é de relevante significado para o monitoramento e introgressão de genes destas cultivares em programas de melhoramento genético de feijão. Destaca-se também como importante doença do feijoeiro, a mancha angular causada pelo fungo *Phaeoisariopsis griseola* (Sacc.) Ferr, a qual tem sido considerada uma das principais doenças da parte aérea do feijão, tanto em condições tropicais como subtropicais (SARTORATO, 1989).

A identificação das cultivares tradicionais resistentes a estas doenças foi realizada via a presença de marcas moleculares. A utilização de dois *primers*, que se apresentam como marcadores de genes de resistência à antracnose, AA3, A18, (FALEIRO et al., 2003; KELLY e VALLEJO, 2004) possibilitou a identificação de algumas cultivares tradicionais com indicativo da possível presença de pelo menos um gene de resistência à antracnose, e os genes identificados foram *Co-1*, *Co-1<sup>5</sup>* (GONÇALVES-VIDIGAL et. al., 2003).

O marcador molecular OPAA3<sub>1100</sub> do alelo *Co-1<sup>5</sup>* em fase de acoplamento, presente no cultivar Widusa (dados não publicados), possibilitou a identificação de bandas nas cultivares CFE 25, CFE 95 e Empasc 201 (Figura 2B). Desta forma, pode-se concluir que os referidos acessos apresentam indicativos de possuírem o alelo *Co-1<sup>5</sup>* que confere resistência à raça 31 de *Colletotrichum lindemuthianum*. O marcador OPA18<sub>1500</sub>, ligado ao gene *Co-1<sup>5</sup>* em Widusa, em fase de repulsão (GONÇALVES-VIDIGAL e KELLY, 2004), foi detectado nos acessos CFE 108, CFE 92, CFE 93, CFE 102

e Diamante Negro. Estes resultados demonstram que esses acessos não apresentam spectrum de resistência similar à resistência da cultivar Widusa. Este fato é explicado devido ao *locus Co-1* ser de origem andina e os acessos que possuem o marcador OPA18<sub>1500</sub>, de origem Mesoamericana e apresentam reação de compatibilidade similar à da cultivar Cornell 49-242.

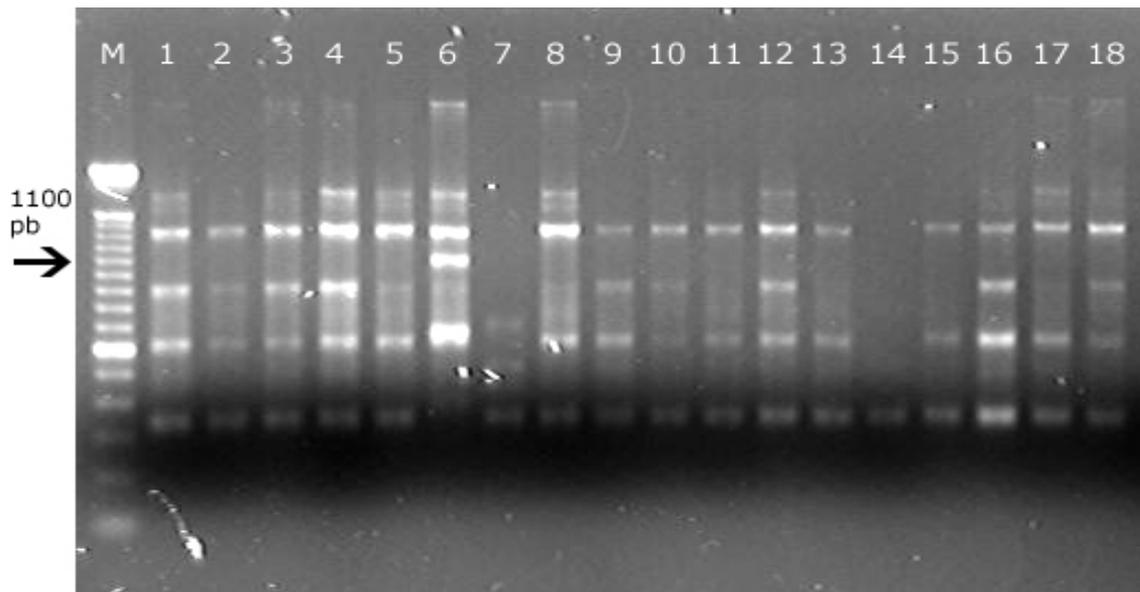


Figura 2B - Análise eletroforética dos produtos de amplificação do DNA genômico de 18 cultivares de feijão com o primer OPAA3. As amostras estão ordenadas conforme descrito: 1, marcador molecular (100pb ladder); 1, CFE 110; 2, CFE 108; 3, CFE 92; 4, CFE 93; 5, CFE 94; 6, CFE 95; 7, CFE 96; 8, CFE 97; 9, CFE 129; 10, CFE 100; 11, CFE 102; 12, CFE 103; 13, CFE 106; 14, CFE 109; 15, CFE 111; 16, CFE 112; 17, CFE 113; 18, CFE 116.

O crestamento bacteriano comum é uma doença cosmopolita que ocorre na cultura do feijoeiro, principalmente nas regiões úmidas e quentes do globo. A bactéria causadora dessa doença é *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* (Smith) Dye. (MARINGONI et al., 1995)

Com o primer OPG19<sub>1500</sub>, que marca o gene de resistência à bacteriose, foi possível identificar as cultivares tradicionais CFE 25, CFE 95 e CFE 106, as quais têm como indicativo da presença deste gene de resistência ao crestamento bacteriano. Conforme mostra a Figura 3B, pode-se observar algumas cultivares (CFE 02, CFE 22, CFE 84 e CFE 115) que possuem o marcador molecular OPF06<sub>350</sub>, o qual está ligado ao gene de resistência à raça 63.39 que causa a mancha angular. As cultivares Diamante Negro e Empasc

201 e as cultivares CFE 108, CFE 94, CFE 95, CFE 97, CFE 100, CFE 112, CFE 116, também exibiram o marcador molecular RAPD OPF06<sub>350</sub>.

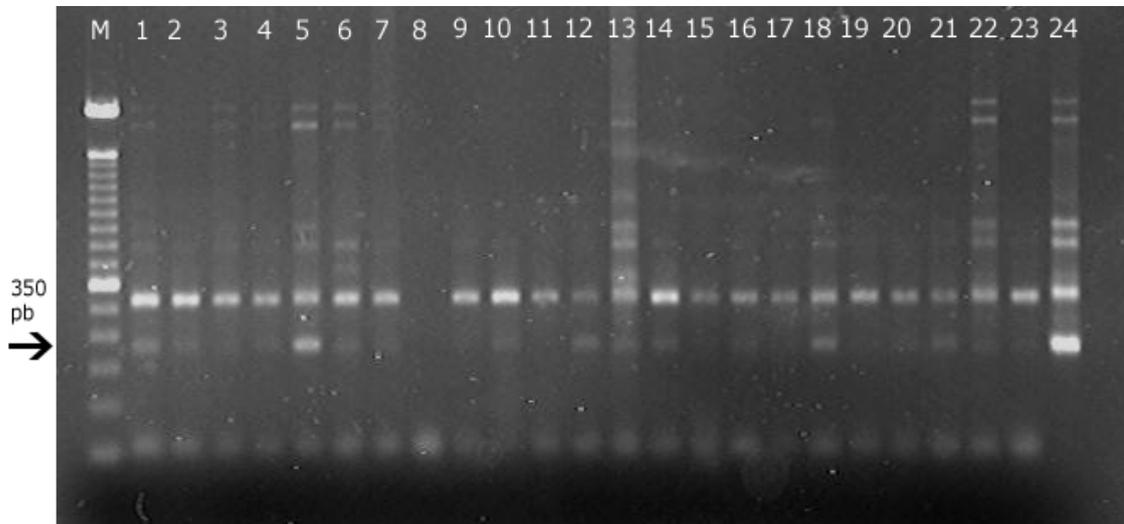


Figura 3B - Análise eletroforética dos produtos de amplificação do DNA genômico de 24 cultivares de feijão com o primer OPF06. As amostras estão Ordenadas conforme descrito: 1, marcador molecular (100pb ladder); 1, CFE 02; 2, CFE 07; 3, CFE 08; 4, CFE 18; 5, CFE 22; 6, CFE 25; 7, CFE 29; 8, CFE 34; 9, CFE 61; 10, CFE 74; 11, CFE 75; 12, CFE 76; 13, CFE 77; 14, CFE 79; 15, CFE 80; 16, CFE 82; 17, CFE 83; 18, CFE 84; 19, CFE 86; 20, CFE 87; 21, CFE 89; 22, CFE 117; 23, CFE 118; 24, CFE 115.

As três doenças, objeto de estudo neste trabalho, podem causar juntas ou isoladamente perdas superiores a 80% do rendimento do feijão (SARTORATO, 1989).

Algumas estratégias de controle a doenças do feijão, incluindo aplicações químicas, práticas culturais e resistência genética podem ser utilizadas. A resistência genética oferece o mais apropriado dos métodos para a agricultura familiar e de subsistência, devido às limitações de recursos destes agricultores (BUSOGORO, 1999).

O presente estudo possibilitou a identificação de algumas cultivares tradicionais que contêm genes para resistência a doenças mencionadas em feijão, cuja informação pode ser útil para a introgressão de genes de resistência presentes nestas cultivares, em programas de melhoramento, ao mesmo tempo em que poderá ser utilizada a seleção assistida por marcadores moleculares.

### **3.3. Associação entre marcadores moleculares RAPD e marcadores morfo-agronômicos**

O uso de marcadores moleculares do DNA na seleção assistida, visando ao desenvolvimento de cultivares resistentes a doenças, é uma realidade em diversos programas de melhoramento no mundo inteiro. A seleção assistida com o uso de marcadores moleculares foi desenvolvida com o avanço da genética molecular, sendo considerada como uma importante ferramenta utilizada para facilitar o processo de melhoramento genético; desta maneira, pode acelerar as etapas de criação de novas cultivares de interesse (ALZATE-MARIN et al., 2005).

Para o melhoramento genético, o uso dos marcadores moleculares tem proporcionado um aumento na capacidade destes, em prever o comportamento dos cruzamentos para as características de interesse. Tal predição é possível, quando houver uma associação entre os locus que controlam características moleculares e os que controlam características morfo-agronômicas (DUARTE et al., 1999).

Assim, o potencial dos marcadores RAPD para predição da variabilidade entre os possíveis cruzamentos está correlacionado à divergência avaliada por estes marcadores. Outra associação importante está com heterose; a existência deste parâmetro também depende da divergência entre cultivares.

Abreu et al. (1999) estudaram algumas cultivares em um cruzamento dialélico, nos quais foram obtidas estimativas para a distância do Mahalanobis, capacidade específica de combinação (CEC) e heterose para rendimento de grão. Comparação destas estimativas foi possível com as distâncias genéticas obtidas, usando marcadores RAPD.

Alguns estudos mostram que as medidas de divergência genética obtidas de características morfo-agronômicas não são úteis para escolher os pais, quando alguma cultivar avaliada não é adaptada (FERREIRA, 1993; ABREU et al., 1999). Uma situação semelhante acontece quando a divergência é estimada com o uso dos marcadores de RAPD, os quais não são influenciados pelo ambiente; com isto, a divergência genética da população ou conjunto de germoplasma é avaliada com maior precisão.

A correlação entre as distâncias genéticas obtidas do índice de Jaccard das 45 cultivares de feijão tradicional com seis primers e as estimativas da distância de Mahalanobis, de  $r = 0,046$ , não foi significativa ( $P_t = 0,075$ ), o que indica que os marcadores não forneceram estimativas semelhantes de divergência genética, em relação aos obtidos com dados morfo-agronômicos. Isto significa que não há uma associação multilocus forte entre características moleculares e morfo-agronômicas nas cultivares.

No entanto, os resultados das análises de agrupamento com base em marcadores RAPD demonstraram ser eficientes em alocar as cultivares tradicionais em grupos distintos do grupo que conteve as cultivares melhoradas (testemunhas). Isto pode ser explicado em parte pela utilização, no presente trabalho, de marcadores ligados a genes relacionados à resistência a doenças em feijão, havendo uma maior probabilidade em estes genes estarem presentes nas cultivares melhoradas, uma vez que, geralmente, um dos objetivos dos programas de melhoramento é direcionado à resistência a doenças.

Duarte et al. (1999) relata que uma outra possível explicação para a ausência de correlações positivas e significativas constantes entre distância genética, CEC e heterose, é porque não há associações de acoplamento entre marcadores e genes que controlam características morfo-agronômicas.

A associação positiva entre distância genética e heterose depende de efeitos de dominância e das diferenças na frequência alélica do caráter considerado (GHADERI et al., 1984).

Para uma característica como rendimento de grãos, existem muitos genes ao longo do genoma controlando a sua expressão. É provável que não tenham sido utilizados muitos marcadores neste estudo, por não terem, provavelmente, alguma ligação com o mesmo.

No entanto, os resultados obtidos, usando marcadores moleculares RAPD, foram parcialmente similares aos obtidos pelo estudo de características morfo-agronômica, sendo, ambos, eficientes em alocar em diferentes grupos as cultivares melhoradas e as tradicionais, demonstrando que existe suficiente variabilidade genética para ser explorada em programas de melhoramento para obtenção de novas cultivares.

#### 4. CONCLUSÕES

1. Os resultados obtidos, usando marcadores moleculares RAPD, foram parcialmente similares aos obtidos pelo estudo de características morfoagronômica, sendo ambos eficientes em alocar em diferentes grupos as cultivares melhoradas e as tradicionais, demonstrando que existe suficiente variabilidade genética para ser explorada em programas de melhoramento para obtenção de novas cultivares com grão do tipo preto.

2. As cultivares FT Nobre, Empasc 201, Diamante Negro e CFE 113 foram as mais similares em relação às demais cultivares, enquanto a cultivar mais divergente foi a CFE 34 em relação às cultivares Diamante Negro, FT Nobre, Empasc 201 e CFE 113.

3. A predição genética para *Colletotrichum lindemuthianum* possibilitou a identificação de algumas cultivares tradicionais com o indicativo da possível presença dos genes de resistência *Co-1*, *Co-1<sup>5</sup>*.

4. Marcadores moleculares ligados a genes de resistência à Mancha Angular e à Bacteriose estão presentes em alguns cultivares.

5. A utilização de marcadores moleculares, juntamente com caracteres morfoagronômicos na avaliação de cultivares de feijão, fornece informações precisas e complementares nas análises de divergência genética.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, A.F.B.; RAMALHO, M.A .P.; FERREIRA, D.F. Selection potential for seed yield from intra- and inter-racial populations in common bean. **Euphytica**, v.108, p.121–127, 1999.

ALZATE-MARIN, A.L.; CARVALHO, G.A.; MENARIN, H. Identification of RAPD markers associated with resistance to antracnose in common bean. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, Colorado, v.40, p.130-133, 1997.

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, p. 333-342, 2005.

ALZATE-MARÍN, A.L.; MENARIM, H.; CARVALHO, G.A.; PAULA Jr., T.J.; BARROS, E.G.; MOREIRA, M.A. de. Improved selection with newly identified RAPD markers linked to resistance gene to four pathotypes of *Colletotrichum lindemuthianum* in common bean. **Phytopathology**, v.89, p.281-285, 1999.

AMARUL ISLAM, F.M.; BEEBE, S.; MUÑOZ M.; TOHME, J. Using molecular markers to assess the effect of introgression on quantitative attributes of common bean in the Andean gene pool. **Theor. Appl. Genetic**, v.108, p.243-252, 2004.

BEEBE, S.; SKROCH, P.W.; TOHME, J.; DUQUE, M.C.; PEDRAZA, F.; NIENHUIS, J. Structure of genetic diversity among common bean landraces of middle American origin based on correspondence analysis of RAPD. **Crop Science**, v.40, p.264-273, 2000.

BRIAND, A.E.; BROWN, A.E.; LENNÉ, J.M.; TEVERSON, D.M. Random amplified polymorphic DNA variation within and among bean landrace mixtures (*Phaseolus vulgaris* L.) from Tanzania. **Euphytica**, v.102, p.371-377, 1998.

BUSOGORO, J.P.; JIJAKLI, M.H.; LEPOIVRE, P. Identification of a novel source of resistance to angular leaf spot disease of common bean within the secondary gene pool. **Plant Breeding**, v.118, p.417-423, 1999.

CRUZ, C.D. **Programa Genes: versão windows; aplicativo computacional em genética e estatística**. Viçosa: Imprensa Universitária, 2001. 648p.

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

DIAS, L.S. Análises multidimensionais. In. Eletroforese de isoenzimas e proteínas afins: fundamentos e aplicações em plantas e microorganismos. ALFENAS, A.C. Viçosa: Ed. UFV, 574 p. 1998.

DUARTE, J.M.; SANTOS, J.B.; MELO, L.C. Genetic divergence among common bean cultivars from different races based on RAPD markers. **Genetics and Molecular Biology**, v.22, p.419-426, 1999.

EDWARDS, K.; JOHNSTONE, C.; THOMPSON, C. A single and rapid method for the preparation of plant genomic DNA for PCR analysis. **Nuc. Acids Res.**, v.19, n.6, p.1349, 1991.

EMIGDYO, B.M.; ANTUNES, I.F.; CHOER, E.; NEDEL, J.L. Eficiência de coeficientes de similaridade em genótipos de feijão mediante marcadores RAPD. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.38, p.243-250, 2003.

FALEIRO, F.G.; RAGAGNIN, V.A.; SCHUSTER, I.; CORRÊA, R.X.; GOODGOD, P.I.; BROMMONSHENKEL, S.H.; MOREIRA, M.A.; BARROS, E.G. Mapeamento de genes de resistência do feijoeiro à ferrugem, antracnose e mancha angular usando marcadores RAPD. **Fitopatologia Brasileira**, v.28, p.59-66, 2003.

FERREIRA, C.F. **Herança da resistência do feijoeiro à mancha angular e identificação de marcador RAPD ligado ao gene de resistência**. 1998. 37f. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1998.

FERREIRA, D.F. **Métodos de avaliação da divergência genética em milho e suas relações com os cruzamentos dialélicos**. 1993. 72f. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1993.

FERREIRA, M.E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares na análise genética**. Brasília: Embrapa-Cenargen, 1995, 220p.

FONSECA, J.R.; SILVA, H.T. Identificação de duplicidades de acessos de feijão por meio de técnicas multivariadas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.34, n.3, p.409-414, 1999.

GARCIA, M.G.; ONTIVERO, M.; DIAS RICCI, L.C; CASTAGNARO, A. Morphological traits and high resolution RAPD markers for the identification of the main strawberry varieties cultivated in Argentina. **Plant Breeding**, v.121, p. 76-80, 2002.

GHADERI, A.; ADAMS, M.W.; NASSIB, A.M. Relationship between genetic distance and heterosis for yield and morphological traits in dry edible bean and faba bean. **Crop Science**, v.24, p.37-42. 1984.

GONÇALVES-VIDIGAL, M.C.; KELLY, J.D. RAPD marker linked to *Co-1<sup>5</sup>* anthracnose resistance gene in *Widusa*. **Annual Report Bean Improvement Cooperative**, v.47, p.135-136, 2004.

GONÇALVES-VIDIGAL, M.C.; VALLEJO, V.A.; KELLY, J.D. Characterization of the anthracnose resistance in the differential cultivar *Widusa*. **Annual Report Bean Improvement Cooperative**, v.46, p.175-176, 2003.

KELLY, J.D.; VALLEJO, V.A. A comprehensive review of the major genes conditioning resistance to anthracnose in common bean. **Hort Science**, v.39, p.1196-1207, 2004.

LOARCE, Y.; GALLEGOS, R.; FERRER, E. A comparative analysis of the genetic relationship between rye cultivars using RFLP and RAPD markers. **Euphytica**, v. 88, p. 107-115, 1996

MARINGONI, A.C.; KIMATI, H.; KUROZAWA, C. Presença da *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* em sementes de feijoeiro e conseqüências epidemiológicas. **Fitopatologia Brasileira**, v.20, p.449-457, 1995.

MILACH, S.C.K. Marcadores de DNA - Aplicações no melhoramento de plantas. In: **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**. v.5, 2000.

SARTORATO, A. **Resistência vertical e horizontal do feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.) a *Isariopsis griseola* Sacc.** Piracicaba, SP: ESALQ, 1989. 131 p. Tese (Doutorado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, 1989.

TINGEY, S.V.; RAFALSKI, J.A.; WILLIAMS, J.G.K. **Genetic analysis with RAPD markers.** Minneapolis: AVI, 1992. 144p. (Joint plant breeding symposia series).

VASCONCELOS, M.J.V. **Avaliação da variabilidade genética de cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) pelo uso de marcadores moleculares RAPD.** 1994. 54f. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento) - Universidade Federal de Viçosa, 1994.

VILARINHOS, A.D.; GONÇALVES-VIDIGAL, M.C.; DE BARROS, E.G.; PAULA-JÚNIOR, T.J.; CRUZ, C.D.; MOREIRA, M.A. RAPD-PCR Characterization of varieties of the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) used to identify races of anthracnose fungus (*Colletotrichum lindemuthianum*). **Brazilian Journal Genetics**, v.18, p.275-280, 1995.

WILLIAMS, J.G.K.; KUBELIK, A.R.; LIAK, K.J. et al. DNA polymorphism amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. **Nucleic Acids Research**, v.18, n.22, p.6531-6535, 1990.

## **6. ANEXOS**

Quadro 1A – Estimativas da Distância de Mahalanobis<sup>1</sup> entre 45 cultivares de feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) para 11 características fenotípicas

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1	0,00	540,0	572,3	425,4	3156,6	66,0	18,1	104,8	312,5	29,0	600,4	21,6	1,3	555,6	676,7
2		0,00	1224,8	1150,1	4981,7	627,3	537,2	714,7	668,4	589,7	1085,7	573,5	526,6	0,1	1342,6
3			0,00	855,7	4837,7	675,7	526,3	658,5	686,2	547,7	962,1	519,0	556,8	1235,4	4,5
4				0,00	3832,7	504,1	389,4	546,1	637,2	401,4	981,5	386,6	414,8	1169,6	953,6
5					0,00	2764,6	3149,2	3334,5	4845,2	3096,7	4163,6	3129,3	3164,1	5021,9	5049,0
6						0,00	57,1	191,6	447,0	50,6	613,3	49,8	58,7	644,0	787,2
7							0,000	100,4	297,2	9,9	553,0	4,9	12,7	552,8	628,0
8								0,00	410,7	135,6	730,6	121,1	117,0	731,4	761,1
9									0,00	279,3	790,4	294,0	298,6	682,7	775,0
10										0,00	468,0	2,0	20,7	606,3	650,9
11											0,00	482,0	583,8	1100,8	1053,1
12												0,00	14,7	589,7	619,9
13													0,00	542,0	660,4
14														0,00	1352,7
15															0,00

<sup>1</sup> Valores das estimativas divididos por 10.000.

continuação Quadro 1A...

	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
1	311,0	2605,7	54,0	17,7	110,8	921,4	26,8	647,8	22,6	4,0	252,0	310,1	236,3	2476,2	48,1
2	1027,8	4314,1	629,1	528,8	716,4	1110,5	594,9	1123,3	573,8	534,5	57,7	915,8	932,8	4154,0	630,1
3	753,9	4177,8	660,1	525,0	684,7	1191,3	554,0	998,3	519,3	548,8	855,7	42,1	679,7	4021,6	648,0
4	10,3	3248,4	483,5	391,9	553,3	1234,5	401,3	1027,7	386,6	405,7	786,1	607,5	31,5	3112,6	469,7
5	3600,9	26,6	2742,1	3155,0	3368,8	6565,7	3052,9	4262,7	3128,4	3137,6	4267,8	4284,1	3496,3	41,6	2738,4
6	376,6	2252,4	1,4	54,0	201,4	1134,8	46,6	662,5	49,9	52,2	320,2	394,4	295,4	2131,0	3,8
7	277,3	2597,2	44,3	0,2	107,5	907,1	8,5	599,1	5,1	6,7	244,6	272,1	204,2	2467,7	36,7
8	429,3	2776,9	176,2	104,6	0,6	1027,4	132,9	778,9	121,9	110,8	403,8	401,9	352,6	2646,1	166,9
9	549,1	4163,4	434,5	295,3	399,6	167,1	286,0	827,0	294,2	294,9	434,7	458,9	480,7	4001,5	424,3
10	286,1	2549,3	39,0	9,1	142,1	873,5	0,5	511,0	1,9	13,5	282,3	288,2	210,2	2421,0	32,1
11	852,9	3563,1	605,8	550,7	739,6	1351,6	495,6	1,0	480,3	572,7	790,6	733,6	753,8	3423,4	600,2
12	273,6	2578,7	38,1	4,3	129,0	901,4	2,2	525,5	0,0	8,4	269,2	266,8	199,4	2449,6	31,3
13	301,0	2611,8	47,1	11,9	123,5	901,4	18,8	630,6	15,5	1,2	240,6	296,7	226,5	2482,0	41,2
14	1047,1	4352,1	645,9	544,2	733,3	1123,0	611,6	1138,2	590,0	550,1	62,7	927,8	951,7	4191,4	647,1
15	852,6	4378,9	771,1	626,6	789,0	1270,1	657,9	1088,4	620,2	652,3	966,2	74,1	778,1	4220,2	758,6

<sup>1</sup> Valores das estimativas divididos por 10.000.

continuação Quadro 1A...

	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45
1	17,9	78,9	976,0	28,2	364,8	22,3	2,1	610,6	676,6	275,6	2301,7	47,2	17,4	151,1	868,7
2	527,7	680,0	1153,9	614,9	863,5	573,4	487,8	2,4	1342,2	974,3	3940,0	633,7	509,7	771,6	1070,0
3	526,6	609,2	1240,3	572,3	754,0	519,1	570,4	1301,9	4,5	711,9	3809,1	648,6	530,7	737,5	1144,4
4	391,7	506,8	1290,5	404,7	740,4	386,4	427,8	1234,9	953,8	17,9	2924,6	468,2	398,2	609,3	1185,7
5	3159,7	3320,3	<b>6693,3</b>	2968,3	3831,0	3128,6	3209,9	5168,3	5049,8	3591,0	67,9	2725,7	3170,9	3397,9	6433,3
6	56,8	159,6	1194,4	42,7	382,6	49,7	63,5	704,2	787,1	341,0	1971,3	4,7	52,8	249,4	1076,2
7	0,0	72,3	961,8	10,2	324,5	5,0	16,7	608,6	628,0	242,8	2292,9	35,8	0,6	150,0	854,3
8	101,9	2,5	1082,8	135,4	487,2	121,9	123,6	788,9	761,1	392,4	2468,7	165,5	105,9	5,2	974,3
9	296,0	371,0	191,0	306,1	570,4	293,9	300,5	716,3	774,6	507,5	3780,9	425,9	294,5	461,2	144,8
10	10,2	102,9	926,9	1,8	260,3	1,9	26,9	663,6	650,8	251,0	2248,3	31,3	9,9	191,1	821,7
11	553,5	689,2	1402,1	509,5	30,5	482,0	590,0	1155,8	1053,0	807,9	3237,5	601,4	550,6	798,6	1302,6
12	5,2	90,3	955,8	4,0	270,2	0,0	20,0	647,0	619,8	238,9	2275,7	30,6	5,0	175,5	848,7
13	12,4	88,2	955,6	20,5	350,4	15,3	1,0	596,6	660,4	265,6	2307,1	40,4	11,5	167,4	849,1
14	543,1	696,6	1166,2	632,0	878,7	589,5	502,7	1,5	1352,3	993,3	3976,7	650,8	525,0	788,6	1082,6
15	628,4	710,2	1318,5	677,8	846,9	620,0	674,9	1420,2	<b>0,0</b>	809,8	4004,2	759,3	632,9	842,3	1223,7

<sup>1</sup> Valores das estimativas divididos por 10.000.

continuação Quadro 1A...

	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
16	0,00	3028,2	357,3	279,4	437,2	1161,9	285,7	899,1	273,5	291,9	666,5	504,7	6,0	2895,1	344,5
17		0,00	2230,8	2602,4	2808,7	5781,4	2509,6	3657,1	2577,9	2587,1	3637,7	3651,8	2927,0	1,7	2226,8
18			0,00	41,8	185,9	1122,4	34,8	655,3	38,3	40,5	317,7	380,0	277,2	2110,0	0,6
19				0,00	111,7	904,0	7,7	596,7	4,4	6,0	238,6	270,8	205,9	2472,7	34,6
20					0,00	1002,8	139,5	787,8	129,4	117,4	408,3	422,5	360,7	2677,3	176,6
21						0,00	886,9	1380,5	901,7	900,2	935,7	985,5	1094,6	5593,8	1110,2
22							0,00	540,0	2,1	11,6	285,3	292,6	210,2	2382,2	27,9
23								0,00	523,7	619,5	830,9	772,2	799,2	3516,2	649,6
24									0,00	9,1	269,5	267,0	199,3	2448,8	31,4
25										0,00	244,0	289,3	217,6	2457,8	34,3
26											0,00	571,0	578,1	3487,4	316,2
27												0,00	431,9	3502,4	369,4
28													0,00	2794,6	265,3
29														0,00	2106,2
30															0,00

<sup>1</sup> Valores das estimativas divididos por 10.000.

continuação Quadro 1A...

	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45
16	279,4	391,3	1218,6	287,9	616,0	273,4	313,5	1112,5	852,8	1,3	2711,5	343,0	285,1	491,7	1111,5
17	2606,8	2761,0	5902,2	2432,9	3241,4	2578,0	2653,9	4490,4	4379,7	3016,3	9,5	2215,2	2616,9	2839,6	5656,4
18	44,2	144,6	1182,0	30,7	374,0	38,1	52,4	706,7	771,1	322,2	1950,4	1,0	41,1	233,3	1063,8
19	0,1	75,8	958,6	9,5	322,6	4,3	15,6	599,6	626,6	244,6	2297,7	33,8	0,2	155,2	851,2
20	109,0	4,2	1057,2	142,4	495,8	129,5	130,0	789,8	789,0	400,2	2499,0	175,2	113,0	3,9	950,6
21	904,6	979,9	0,8	921,7	1139,8	901,3	900,0	1138,0	1269,4	1113,6	5337,2	1113,6	901,7	1077,4	0,8
22	8,8	100,6	940,7	0,6	281,1	2,1	25,1	669,4	657,8	250,9	2210,8	27,1	8,6	188,1	834,5
23	599,6	736,9	1430,4	554,9	42,1	525,5	636,7	1192,6	1088,2	853,6	3328,8	650,9	596,4	847,3	1332,0
24	5,3	90,6	956,2	3,9	268,9	0,0	21,0	647,3	620,1	238,9	2274,9	30,7	5,1	175,9	849,0
25	6,5	82,0	954,5	13,0	340,4	8,8	3,4	605,4	652,2	256,8	2283,5	33,4	5,9	161,3	847,6
26	238,1	369,9	983,0	299,4	566,9	269,1	215,8	82,8	965,9	618,9	3286,2	318,4	225,8	460,6	890,8
27	272,2	357,4	1035,6	306,7	521,1	266,9	307,3	990,6	74,1	465,1	3299,6	369,7	274,9	474,1	937,5
28	206,1	315,3	1151,0	212,4	523,3	199,2	238,2	1016,3	778,3	2,0	2612,5	263,8	210,9	414,3	1043,7
29	2477,0	2629,7	5712,9	2307,6	3103,9	2448,9	2523,1	4327,5	4220,9	2882,6	3,2	2094,9	2486,8	2708,6	5470,6
30	36,8	135,6	1169,7	23,8	368,0	31,3	46,9	708,1	758,6	309,8	1946,2	0,1	34,2	223,7	1051,8

<sup>1</sup> Valores das estimativas divididos por 10.000.

continuação Quadro 1A...

	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45
31	0,00	73,7	959,2	10,7	324,9	5,2	16,0	598,4	628,3	244,7	2301,9	35,9	0,4	151,8	851,8
32		0,00	1034,7	103,3	448,1	90,7	94,7	753,9	710,2	354,6	2451,9	134,3	77,1	14,9	927,2
33			0,00	976,4	1191,0	955,7	953,9	1179,9	1317,8	1169,6	<b>5454,0</b>	1173,2	956,2	1132,8	3,2
34				0,00	292,2	3,9	27,4	691,0	677,7	253,6	2138,9	22,8	10,6	190,6	868,3
35					0,00	270,2	356,4	934,1	846,8	573,5	2920,5	368,7	322,6	551,8	1090,1
36						0,00	20,7	646,8	620,0	238,8	2275,0	30,6	5,0	176,0	848,6
37							0,00	555,2	674,9	277,5	2346,9	46,3	14,4	174,2	847,9
38								0,00	1419,8	1057,7	4110,0	712,0	579,4	845,8	1098,9
39									0,00	810,0	4004,9	759,3	632,9	842,3	1223,1
40										0,00	2698,5	308,4	249,9	454,3	1063,4
41											0,00	1935,4	2311,4	2530,8	5216,6
42												0,00	33,6	222,2	1055,0
43													0,00	156,5	849,1
44														0,00	1024,4
45															0,00

<sup>1</sup> Valores das estimativas divididos por 10.000.

Quadro 1B. Estimativas do índice de Jaccard entre 45 cultivares de feijão tradicional (*Phaseolus vulgaris* L.) obtidos para 6 primers

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1	0,000	0,200	0,214	0,167	0,172	0,313	0,200	0,150	0,281	0,258	0,143	0,290	0,286	0,290	0,281
2		0,000	0,125	0,097	0,091	0,222	0,179	0,261	0,194	0,118	0,125	0,147	0,129	0,147	0,143
3			0,000	0,167	0,156	0,235	0,185	0,238	0,206	0,125	0,045	0,212	0,138	0,265	0,206
4				0,000	0,129	0,156	0,231	0,292	0,125	0,097	0,095	0,188	0,172	0,188	0,125
5					0,000	0,250	0,207	0,227	0,222	0,147	0,083	0,121	0,219	0,121	0,171
6						0,000	0,323	0,333	0,289	0,222	0,231	0,250	0,242	0,297	0,243
7							0,000	0,111	0,143	0,179	0,167	0,143	0,231	0,111	0,074
8								0,000	0,292	0,261	0,111	0,304	0,273	0,227	0,320
9									0,000	0,088	0,043	0,171	0,188	0,171	0,059
10										0,000	0,000	0,147	0,161	0,147	0,088
11											0,000	0,083	0,160	0,125	0,083
12												0,000	0,161	0,063	0,118
13													0,000	0,219	0,212
14														0,000	0,118
15															0,000

continuação Quadro 1B...

	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
1	0,344	0,310	0,323	0,267	0,375	0,269	0,387	0,367	0,375	0,355	0,333	0,300	0,344	0,375	0,424
2	0,147	0,314	0,176	0,176	0,176	0,231	0,333	0,361	0,368	0,324	0,333	0,410	0,316	0,342	0,316
3	0,212	0,226	0,242	0,188	0,242	0,240	0,353	0,382	0,432	0,389	0,395	0,474	0,378	0,405	0,333
4	0,188	0,258	0,161	0,161	0,219	0,192	0,226	0,200	0,219	0,194	0,182	0,303	0,188	0,219	0,273
5	0,176	0,242	0,206	0,257	0,206	0,192	0,361	0,389	0,395	0,351	0,359	0,395	0,342	0,368	0,342
6	0,250	0,361	0,324	0,324	0,278	0,259	0,286	0,265	0,368	0,278	0,243	0,324	0,270	0,297	0,270
7	0,077	0,148	0,185	0,115	0,115	0,208	0,400	0,433	0,367	0,367	0,344	0,394	0,355	0,387	0,323
8	0,261	0,238	0,227	0,261	0,261	0,059	0,318	0,273	0,304	0,273	0,400	0,200	0,273	0,273	0,318
9	0,118	0,182	0,147	0,091	0,147	0,192	0,306	0,333	0,250	0,297	0,263	0,342	0,243	0,270	0,289
10	0,091	0,212	0,121	0,121	0,121	0,160	0,333	0,361	0,324	0,278	0,333	0,368	0,270	0,297	0,270
11	0,087	0,043	0,087	0,087	0,087	0,100	0,280	0,320	0,346	0,308	0,357	0,296	0,308	0,308	0,259
12	0,121	0,188	0,152	0,206	0,152	0,120	0,314	0,343	0,351	0,306	0,270	0,351	0,297	0,324	0,250
13	0,219	0,258	0,161	0,161	0,219	0,174	0,281	0,313	0,353	0,324	0,343	0,382	0,324	0,324	0,212
14	0,063	0,242	0,094	0,206	0,094	0,083	0,314	0,343	0,306	0,257	0,316	0,351	0,250	0,278	0,250
15	0,061	0,182	0,147	0,091	0,091	0,192	0,351	0,378	0,297	0,297	0,263	0,385	0,289	0,316	0,289

continuação Quadro 1B...

	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45
1	0,280	0,269	0,364	0,394	0,360	0,344	0,344	0,323	0,355	0,406	0,394	0,355	0,300	0,333	0,387
2	0,160	0,375	0,400	0,385	0,355	0,342	0,385	0,194	0,351	0,351	0,385	0,351	0,103	0,333	0,229
3	0,174	0,387	0,421	0,405	0,345	0,361	0,405	0,207	0,371	0,417	0,405	0,371	0,179	0,353	0,242
4	0,120	0,231	0,212	0,242	0,160	0,188	0,188	0,161	0,194	0,250	0,242	0,194	0,194	0,226	0,226
5	0,200	0,344	0,425	0,410	0,387	0,368	0,410	0,226	0,378	0,378	0,410	0,378	0,200	0,405	0,257
6	0,160	0,290	0,316	0,297	0,179	0,250	0,250	0,194	0,257	0,257	0,250	0,257	0,167	0,286	0,176
7	0,200	0,355	0,375	0,406	0,400	0,406	0,406	0,240	0,419	0,419	0,455	0,419	0,208	0,400	0,276
8	0,273	0,118	0,348	0,318	0,318	0,348	0,348	0,273	0,318	0,348	0,318	0,318	0,304	0,238	0,333
9	0,160	0,290	0,289	0,316	0,323	0,270	0,359	0,161	0,368	0,410	0,359	0,324	0,250	0,351	0,200
10	0,125	0,323	0,359	0,342	0,300	0,297	0,385	0,194	0,351	0,395	0,385	0,351	0,226	0,378	0,229
11	0,105	0,308	0,393	0,370	0,333	0,308	0,414	0,100	0,370	0,393	0,393	0,346	0,143	0,346	0,125
12	0,125	0,290	0,342	0,324	0,333	0,278	0,368	0,167	0,333	0,333	0,368	0,333	0,138	0,361	0,206
13	0,160	0,357	0,324	0,353	0,310	0,303	0,343	0,148	0,303	0,324	0,273	0,333	0,111	0,281	0,219
14	0,125	0,267	0,342	0,324	0,333	0,324	0,368	0,167	0,333	0,333	0,368	0,333	0,200	0,361	0,257
15	0,192	0,344	0,333	0,359	0,344	0,316	0,359	0,219	0,368	0,368	0,400	0,368	0,194	0,395	0,200

continuação Quadro 1B...

	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
16	0,000	0,242	0,094	0,152	0,032	0,125	0,314	0,343	0,306	0,257	0,316	0,395	0,250	0,278	0,250
17		0,000	0,219	0,161	0,219	0,125	0,429	0,457	0,417	0,371	0,378	0,417	0,405	0,389	0,314
18			0,000	0,125	0,065	0,000	0,294	0,324	0,286	0,182	0,342	0,378	0,229	0,206	0,176
19				0,000	0,125	0,167	0,389	0,417	0,333	0,286	0,342	0,421	0,324	0,306	0,278
20					0,000	0,087	0,343	0,371	0,333	0,235	0,342	0,421	0,278	0,257	0,229
21						0,000	0,208	0,174	0,240	0,045	0,222	0,231	0,125	0,087	0,125
22							0,000	0,103	0,129	0,242	0,206	0,343	0,182	0,212	0,235
23								0,000	0,188	0,219	0,182	0,324	0,156	0,188	0,294
24									0,000	0,235	0,200	0,333	0,176	0,206	0,278
25										0,000	0,200	0,235	0,063	0,032	0,176
26											0,000	0,250	0,143	0,171	0,289
27												0,000	0,176	0,206	0,324
28													0,000	0,031	0,222
29														0,000	0,200
30															0,000

continuação Quadro 1B...

	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45
16	0,125	0,300	0,342	0,324	0,300	0,324	0,368	0,167	0,333	0,333	0,368	0,333	0,200	0,361	0,206
17	0,250	0,355	0,405	0,432	0,400	0,389	0,432	0,300	0,444	0,444	0,474	0,444	0,333	0,472	0,324
18	0,043	0,276	0,324	0,306	0,276	0,306	0,351	0,138	0,314	0,314	0,351	0,314	0,233	0,343	0,286
19	0,200	0,387	0,368	0,395	0,355	0,351	0,395	0,258	0,405	0,405	0,436	0,405	0,233	0,389	0,286
20	0,125	0,333	0,368	0,351	0,300	0,351	0,395	0,200	0,361	0,314	0,395	0,361	0,233	0,389	0,235
21	0,000	0,130	0,192	0,160	0,056	0,160	0,231	0,125	0,167	0,167	0,231	0,167	0,240	0,208	0,280
22	0,045	0,185	0,182	0,156	0,080	0,156	0,212	0,074	0,161	0,219	0,156	0,100	0,179	0,133	0,188
23	0,000	0,154	0,156	0,100	0,040	0,129	0,161	0,038	0,133	0,194	0,129	0,069	0,148	0,036	0,212
24	0,125	0,214	0,176	0,206	0,148	0,206	0,257	0,200	0,265	0,314	0,257	0,212	0,290	0,242	0,257
25	0,087	0,077	0,176	0,152	0,077	0,152	0,206	0,172	0,156	0,156	0,206	0,156	0,267	0,242	0,333
26	0,160	0,138	0,088	0,118	0,111	0,061	0,171	0,161	0,176	0,176	0,171	0,121	0,194	0,206	0,250
27	0,280	0,071	0,278	0,257	0,259	0,206	0,306	0,290	0,314	0,361	0,257	0,265	0,375	0,343	0,378
28	0,087	0,000	0,118	0,091	0,077	0,091	0,200	0,103	0,152	0,206	0,147	0,094	0,258	0,182	0,278
29	0,087	0,038	0,147	0,121	0,077	0,121	0,229	0,138	0,182	0,182	0,176	0,125	0,290	0,212	0,306
30	0,087	0,233	0,270	0,250	0,148	0,250	0,200	0,200	0,257	0,257	0,250	0,257	0,290	0,333	0,257

continuação Quadro 1B...

	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45
31	0,000	0,056	0,125	0,045	0,048	0,087	0,125	0,000	0,087	0,125	0,125	0,045	0,125	0,045	0,125
32		0,000	0,107	0,074	0,050	0,074	0,207	0,087	0,148	0,214	0,143	0,077	0,280	0,185	0,300
33			0,000	0,091	0,040	0,091	0,147	0,133	0,094	0,152	0,091	0,094	0,281	0,182	0,324
34				0,000	0,000	0,063	0,176	0,103	0,125	0,182	0,121	0,065	0,258	0,156	0,286
35					0,000	0,040	0,040	0,045	0,000	0,040	0,000	0,000	0,167	0,080	0,233
36						0,000	0,176	0,103	0,125	0,182	0,121	0,065	0,200	0,156	0,257
37							0,000	0,167	0,125	0,182	0,121	0,125	0,258	0,212	0,333
38								0,000	0,107	0,172	0,103	0,037	0,172	0,074	0,143
39									0,000	0,067	0,065	0,067	0,207	0,161	0,314
40										0,000	0,125	0,129	0,207	0,219	0,314
41											0,000	0,065	0,258	0,156	0,306
42												0,000	0,207	0,100	0,265
43													0,000	0,111	0,111
44														0,000	0,242
45															0,000

# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)