UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUÇÃO VEGETAL

PABLO DIEGO SILVA CABRAL

DIVERSIDADE MOLECULAR E MORFOAGRONÔMICA DE GENÓTIPOS DE FEIJOEIRO (*Phaseolus vulgaris* L.) AVALIADOS NA REGIÃO SUL DO ESPÍRITO SANTO

ALEGRE, ES
2010

Livros Grátis

http://www.livrosgratis.com.br

Milhares de livros grátis para download.

PABLO DIEGO SILVA CABRAL

DIVERSIDADE MOLECULAR E MORFOAGRONÔMICA DE GENÓTIPOS DE FEIJOEIRO (*Phaseolus vulgaris* L.) AVALIADOS NA REGIÃO SUL DO ESPÍRITO SANTO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal, na área de concentração Biotecnologia e Ecofisiologia do Desenvolvimento de Plantas.
Orientadora: Prof. Dra. Taís Cristina Bastos Soares.

ALEGRE, ES
2010

PABLO DIEGO SILVA CABRAL

DIVERSIDADE MOLECULAR E MORFOAGRONÔMICA DE GENÓTIPOS DE FEIJOEIRO (*Phaseolus vulgaris* L.) AVALIADOS NA REGIÃO SUL DO ESPÍRITO SANTO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal, na área de concentração Biotecnologia e Ecofisiologia do Desenvolvimento de Plantas.

APROVADA:

COMISSÃO EXAMINADORA

_____
Profª. Dra. Taís Cristina Bastos Soares
Universidade Federal do ES
Orientadora

_____
Profª. Dra Andreia Barcelos Passos Lima
Universidade Federal do ES
Conselheira

_____
Prof. Dr. Fábio Demolinari de Miranda
Universidade Federal do ES

_____
Prof. Dr. Sebastião Martins Filho
Universidade Federal de Viçosa - MG

A minha mãe Nilza,
dedico.

AGRADECIMENTOS

A Deus.

Aos meus pais, Nilza Maria da Silva e Julio Cezar Cabral, pela ajuda, pelo crescimento moral, familiar e compreensão em todos os momentos.

À Profª. Dra. Taís Cristina Bastos Soares, minha orientadora, pela confiança, pelos valiosos ensinamentos, conselhos, enorme cooperação e confiança depositada.

À EMBRAPA e à comunidade Fortaleza, pela disponibilização dos genótipos de feijão para o desenvolvimento desta.

Ao Prof. Dr. Frederico de Pina Matta, ao Prof. Dr. Fábio Demolinari de Miranda e à Profª. Dra. Andreia Barcelos Passos Lima, pelo apoio, pelos inúmeros conhecimentos transmitidos e incondicional disponibilidade para me atender.

A José Arcanjo Nunes, pela pronta disponibilidade em ajudar no desenvolvimento das pesquisas, tornando-se muito importante.

A Diogo, Gustavo, Josimar, Franciele, José Dias, Patrick, pela colaboração na condução do projeto de pesquisa, sendo de fundamental importância no desenvolvimento do projeto.

A minha namorada Angela, pela compreensão, companheirismo e dedicação a mim, durante esse momento.

Ao Prof. Dr. Sebastião Martins Filho, por ter iniciado as pesquisas com os genótipos de feijoeiro da comunidade Fortaleza no CCA-UFES.

Aos técnicos das áreas experimentais, onde foram implantados os experimentos pela disposição em ajudar na condução da pesquisa.

À colega de mestrado Ester e ao técnico de laboratório Fabiano, pela colaboração na condução do projeto de pesquisa.

Ao Programa de Pós-Graduação do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo (CCA-UFES), pela formação e oportunidade concedida.

À CAPES, pela concessão da bolsa de estudos no decorrer do mestrado.

Aos professores, técnicos e funcionários do CCA-UFES, pela contribuição na minha formação, companheirismo e amizade.

Aos amigos e companheiros das Repúblicas, em especial a República Toca dos Gatos, por onde passaram Rick, Zoreia, Garrote, Firme, Alessi, Léo e Gabriel Mortinho.

Enfim, agradeço a todos que direta ou indiretamente contribuíram para que esse trabalho tivesse êxito, obrigado por poder contar com vocês e perdão àqueles de quem eu tenha esquecido...

BIOGRAFIA

PABLO DIEGO SILVA CABRAL, filho de Julio Cesar Cabral e Nilza Maria da Silva, nasceu em Santa Helena de Goiás, Goiás, em 16 de outubro de 1981.

Concluiu o segundo grau (ensino médio/técnico) em 2001, na Escola Agrotécnica Federal de Santa Teresa, em Santa Teresa - ES.

No primeiro semestre de 2003, ingressou na Universidade Federal do Espírito Santo, concluindo o curso de Agronomia em dezembro de 2007.

Em fevereiro de 2008, iniciou o curso de mestrado em Produção Vegetal, área de concentração Biotecnologia e Ecofisiologia do Desenvolvimento de Plantas, na Universidade Federal do Espírito Santo, concluindo-o em fevereiro de 2010.

RESUMO

CABRAL, Pablo Diego Silva, M.Sc., Universidade Federal do Espírito Santo, fevereiro de 2010. **Diversidade molecular e morfoagronômica de genótipos de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) avaliados na região sul do Espírito Santo**. Orientadora: Taís Cristina Bastos Soares.

O feijoeiro (*Phaseolous vulgaris* L.) é uma cultura importante no aspecto socioeconômico, pois é fonte de proteínas e emprega em seu cultivo mão de obra da agricultura familiar. O Brasil é o maior produtor de grãos de feijão e no estado do Espírito Santo essa cultura assume o terceiro lugar em importância. A produtividade da cultura ainda é baixa, mas pode ser aumentada, corrigindo-se o manejo inadequado ainda adotado e utilizando sementes comerciais adaptadas a cada região. Nesse sentido, torna-se necessário conhecer a diversidade genética existente entre as cultivares selvagens e comerciais para subsidiar programas de melhoramento da cultura adaptada às condições climáticas de regiões específicas. Com objetivo de estimar a divergência genética entre 57 genótipos de feijoeiro foram realizados três experimentos, sendo um no ano agrícola de 2008/09 e dois no de 2009/2010. Do total de genótipos utilizados, 31 foram resgatados na localidade de Fortaleza, 20 fornecidos pela EMBRAPA e seis cultivares comerciais. Para estimar a diversidade genética foram utilizadas análises morfoagronômicas e moleculares. As análises morfoagronômicas foram feitas, utilizando 19 caracteres quantitativos e 27 qualitativos, por sua vez, nas moleculares, foram utilizados 16 *primers* de

marcadores moleculares SSR e 11 *primers* ISSR. Os caracteres qualitativos, quantitativos e moleculares mostraram-se eficientes na diferenciação dos genótipos, comprovados pelo valor do coeficiente de correlação cofenética (CCC), sendo que todos foram significativos, a 1% de probabilidade pelo teste “t”. O maior e o menor CCC foram observados, respectivamente, nas análises por SSR (0,923) e ISSR (0,833). Não foi observada concordância entre os agrupamentos feitos pelos três tipos de caracteres. Nas análises por marcadores SSR, observaram-se 14 grupos, pelas ISSR, 11 e pela combinação dos marcadores, 14. Já pelas análises dos caracteres quantitativos, observou-se a formação de 4 grupos e pelos qualitativos, 11. Sendo essa discordância no número de grupos formados esperada, devido à diferença de avaliação de cada caracter. Verificou-se ampla variabilidade entre os genótipos de feijoeiro estudados. Nos genótipos provenientes da comunidade Fortaleza (locais) foi observada uma significativa diversidade genética, mas entre os genótipos provenientes da EMBRAPA, a diversidade foi estreita. As análises por caracteres quantitativos mostraram que nas cultivares comerciais estudadas houve pequena dissimilaridade com menor valor (24,96), entre as cultivares Iapar 81 e Iapar 44, representando 1,08%. Não houve a identificação de duplicatas genéticas e a correlação de apenas 0,22 entre as matrizes de dissimilaridade, obtida pelos marcadores SSR e ISSR demonstram que a utilização desses marcadores em conjunto reflete na melhor eficiência no poder discriminatório dos genótipos. A combinação dos marcadores foi mais eficiente na separação dos genótipos, discriminando diferença entre os mesmos, por outro lado, as análises separadas classificaram esses genótipos como iguais geneticamente. A correlação moderada / alta (0,57) entre os marcadores SSR e os caracteres quantitativos demonstra que a dissimilaridade por meio de marcadores SSR ligados a características de interesse agronômico pode substituir as análises por caracteres quantitativos, já que as análises por esses marcadores não são afetadas pelo ambiente, pois são fáceis, rápidas e requerem menor quantidade de mão de obra e espaço físico.

ABSTRACT

CABRAL, Pablo Diego Silva, M.Sc., Universidade Federal do Espírito Santo, in February 2010. **Molecular diversity and morphoagronomic genotypes of bean (Phaseolus vulgaris L.) evaluated in the south of the Espírito Santo.** Adviser: Thais Cristina Bastos Soares.

The bean (*Phaseolous vulgaris L.)* is an important crop in the socioeconomic aspect, it is a source of proteins and employed its cultivation, labor of family farming. The Brazil is the largest producer of beans and in the state, of the Espírito Santo that culture takes third place in importance. The yield is still low, but can be increased by correcting the improper management has adopted and using commercial seed adapted to each region. In this sense, it is necessary to know the genetic diversity between wild and commercial cultivars to support programs to improve the culture adapted to the conditions of specific regions. To estimate the genetic differences among 57 bean genotypes were performed three experiments, one in the agricultural year of 2008/09 and two in 2009/2010. Of the genotypes, 31 were rescued in the town of Fortaleza, 20 supplied by EMBRAPA and six cultivars. To estimate the genetic diversity were used morphological and molecular analysis. The morphological analysis were made using 19 quantitative characters and 27 qualitative, in turn, the molecular primers were used 16 primers of molecular markers SSR and 11 ISSR primers. The characters qualitative, quantitative and molecular techniques were effective in differentiating the genotypes, as evidenced by the value

of cophenetic correlation coefficient (CCC), all of which were significant, at 1% probability by “t” test. The highest and lowest CCC were observed, respectively, the analysis by SSR (0.923) and ISSR (0.833). There wasn’t correlation between the groupings made by the three types of characters. In the analysis by SSR markers, there were 14 groups, the ISSR, 11 and the combination of markers, 14. In the analysis of quantitative characters, we observed the formation of 4 groups and the qualitative, 11. This discrepancy in the number of groups formed expected, due to the difference in valuation of each character. There was wide variation among bean genotypes studied. In the genotypes from community Fortaleza (local) was a significant genetic diversity, but among the genotypes from EMBRAPA, the diversity was narrow. The analysis of quantitative traits showed that the cultivars studied was small dissimilarity with lower value (24.96) among the cultivars Iapar 81 and Iapar 44, representing 1.08%. There wasn’t identification of duplicates and genetic correlation of only 0.22 between the dissimilarity matrices obtained by SSR and ISSR markers show that these markers together reflected in greater efficiency in discriminating power of the genotypes. The combination of markers was more efficient in the separation of the genotypes, distinguishing difference between them, on the other, the separate analysis classified the genotypes as genetically identical. The correlation moderate / high (0.57) between the SSR markers and quantitative traits shows that the dissimilarity using SSR markers linked to desirable agronomic characteristics can replace the analysis of quantitative traits, since the analysis for these markers aren’t affected by the environment as they are easy, fast and require less amount of manpower and physical space.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO 14
2. REVISÃO DE LITERATURA 18
2.1 Importância do feijoeiro.....18
2.2 Análise da diversidade genética 20
2.3 Diversidade genética do feijoeiro.....22
2.3.1 Utilização de caracteres fenotípicos para estimar a diversidade genética.....24
2.3.2 Utilização de marcadores moleculares para estimar a diversidade genética..25
3. MATERIAL E MÉTODOS 27
3.1 Material genético 27
3.2 Análises morfoagronômicas.....32
3.2.1 Análises de caracteres quantitativos.....32
3.2.2 Análises de caracteres qualitativos.....34
3.3 Análises moleculares 36
3.3.1 Extração de DNA 36
3.3.2 Análises dos marcadores microssatélites 37
3.3.3 Análises dos marcadores ISSR 40
3.4 Análises multivariadas conjuntas.....42
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO 44
4.1 Análises da diversidade utilizando caracteres morfoagronômicos.....44
4.1.1 Análise da diversidade utilizando caracteres quantitativos.....44

4.1.2 Análise de diversidade utilizando caracteres qualitativos 62
4.2 Análise por marcadores moleculares.....69
4.2.1 Análise de diversidade utilizando marcadores moleculares SSR 69
4.2.2 Análise de diversidade utilizando marcadores moleculares ISSR 75
4.2.3 Análise da diversidade por meio da combinação das bandas polimórficas dos marcadores ISSR e SSR.....81
4.3 Análises multivariadas conjuntas.....87
5. CONCLUSÕES 92
6. REFERÊNCIAS 94

1. INTRODUÇÃO

O feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) é um dos produtos mais importante da dieta do brasileiro, com consumo per capita superior a 17 kg/ano (CONAB, 2009). É uma excelente fonte protéica, pois contém grandes quantidades de carboidratos complexos, fibras e isoflavonas (ANDERSON et al., 1999), além de ser uma importante fonte de ferro, fósforo, magnésio e manganês e em menor escala de zinco, e cálcio (BROUGHTON et al., 2003). O cultivo do feijoeiro ocorre em mais de 100 países; porém, o Brasil e a Índia respondem por mais de 33% da colheita global, dominam a produção mundial, seguidos por Mianmar, México, Estados Unidos e Uganda (ZUPPI et al., 2005, FAO, 2009). No Brasil, a produção de feijão registrada em 2008 foi de 3.407.906 toneladas em uma área de 3.768.589 hectares com rendimento médio de 904 kg/ha (CONAB, 2009). No Espírito Santo, o feijão é o terceiro produto agrícola de importância econômica, ocupando uma área de aproximadamente 21,6 mil hectares, com a produção de 17,7 mil toneladas e produtividade de 832 Kg/ha na safra de 2008/2009 (IBGE, 2009). Contudo, a produtividade brasileira é considerada muito baixa, devido ao manejo fitossanitário ser deficiente para essa cultura.

Estudos de diversidade genética têm sido de grande importância em programas de melhoramento, por fornecerem informações sobre parâmetros de identificação de genitores que possibilitem grande efeito heterótico, maior segregação em recombinantes, aumentando a probabilidade do aparecimento de

genótipos superiores nas progênies (ALCÂNTARA NETO, 2001, SILVA et al., 2008). Além da possibilidade de identificar duplicatas, reduzindo assim, gastos consideráveis na manutenção de bancos de germoplasma (OLIVEIRA, 2005). A existência de variabilidade genética é essencial para o sucesso de programas de melhoramento de praticamente todos os caracteres de importância econômica (RAMALHO et al., 1993).

A espécie *P. vulgaris* é uma leguminosa anual, predominantemente autógama, domesticada há mais de 7000 anos em dois centros principais de origem: a Mesoamérica (México e a América Central) e a região Andina (GEPTS et al., 1986; KOENIG e GEPTS, 1989; KHAIRALLAH et al., 1990; KOINANGE e GEPTS, 1992; FREYRE et al., 1996; KWAK e GEPTS, 2009) e vários centros secundários de domesticação (KWAK e GEPTS, 2009). Esse processo produziu uma grande diversidade genética e fenotípica, com uma enorme variedade de cores, textura e tamanho de grão (GUIDOLIN, 2003). Os diversos tipos de feijoeiro são cultivados desde o nível do mar até mais de três mil metros de altitude, principalmente por pequenos agricultores com menos de um hectare, sem irrigação, que usam pouco ou nenhum tipo de fertilizante ou pesticida (SCHOONHOVEN e VOYSEST, 1991).

Nos programas de melhoramento do feijoeiro, os cruzamentos são realizados entre linhagens e cultivares pertencentes a um mesmo grupo gênico, ou seja, do grupo que possui cultivares com as características agronômicas e culinárias mais aceitas na região. Nesse sentido, pouco da variabilidade genética da espécie é explorada, estima-se que menos de 5% da variabilidade existente na espécie está sendo utilizada para fins de melhoramento dessa cultura (SINGH, 1993).

A grande diversidade presente no germoplasma do feijão comum utilizada na agricultura familiar no Brasil foi extremamente importante, pois auxiliou a estratégia de sobrevivência dos pequenos agricultores, visto que eles selecionavam os genótipos adaptados às condições agromorfológicas e socioeconômicas que possuíam, sendo essas condições diferentes das encontradas nos cultivos empresariais (CORDEIRO e MARCATTO, 1994). Contudo, a variabilidade genética que era mantida pela agricultura familiar está sendo perdida, sendo isso decorrência da substituição das variedades locais por cultivares comerciais (CONAFE, 2005). Portanto, o conhecimento da diversidade genética entre as cultivares selvagens e as melhoradas, é importante para subsidiar programas de melhoramento de plantas,

possibilitando explorar a variabilidade existente e já adaptada às condições climáticas de regiões específicas (LOARCE et al., 1996; FRANCO et al., 2001).

No processo de escolha da estratégia adequada de melhoramento, é de vital importância o conhecimento da variabilidade existente no germoplasma. Essa só pode ser eficientemente utilizada se for devidamente avaliada e quantificada (VANDERBORGHT, 1988). Entre as várias ferramentas utilizadas na estimativa da diversidade genética, destacam-se a utilização de marcadores moleculares e a de caracteres fenotípicos qualitativos e/ou quantitativos (VIEIRA et al., 2007).

Marcadores moleculares possibilitam estimar a diversidade genética diretamente ao nível do DNA, reduzindo a interferência das variações ambientais na mensuração do caráter, Além de não sofrerem influência do ambiente, os marcadores moleculares apresentam elevado número de marcas por genoma, elevado polimorfismo, e são livres de pleiotropia (FERREIRA e GRATTAPAGLIA, 1998; CARDOSO, 2009).

Os caracteres qualitativos têm a sua importância na caracterização de germoplasma por sua fácil aferição, seu menor custo e por serem menos influenciados pelo ambiente do que os caracteres quantitativos (VIEIRA et al., 2008). Entretanto, os caracteres quantitativos são muito importantes na avaliação de acessos, uma vez que refletem o real potencial produtivo dos acessos e a possibilidade de sua utilização de forma direta ou no melhoramento genético (VIEIRA et al., 2008), além dos principais caracteres de interesse econômico serem quantitativos.

Análises fenotípicas (quantitativas e qualitativas) combinadas com análises moleculares fornecem um quadro mais completo para o agrupamento dos genótipos e o planejamento de cruzamentos (DIAS, 1994; FERREIRA e GRATTAPAGLIA, 1998). A possibilidade de correlação dos dados moleculares com dados fenotípicos gera informações mais precisas para a escolha de genitores e obtenção da população base para o programa de melhoramento (BERED et al., 2001).

Dessa forma, este trabalho avalia a diversidade genética e morfoagronômica entre 57 genótipos de feijoeiro, sendo 31 locais fornecidos pela comunidade Fortaleza, Muqui - ES, 20 provenientes da EMBRAPA e seis cultivares comerciais, e

identifica a existência de duplicatas entre esses genótipos, por meio de caracteres quantitativos, qualitativos e moleculares.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Importância do feijoeiro

Os grãos do feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) representam uma importante fonte protéica, além de possuir bom conteúdo de carboidratos e de ser rico em sais minerais (CHIORATO, 2004), por isso se tornou fundamental na dieta humana, principalmente nos países em desenvolvimento das regiões tropicais e subtropicais, particularmente nas Américas (47% da produção mundial) e no leste e sul da África (10% da produção mundial) (AIDAR et al., 2002). A cultura utiliza grande quantidade de mão de obra durante todo o ciclo, estima-se cerca de 7 milhões de homens/dia/ciclo no Brasil (VIEIRA et al., 2006). O cultivo dessa leguminosa é bastante difundido em todo o mundo, sendo de grande expressão no território nacional (FAO, 2005).

É reconhecida como cultura de subsistência em pequenas propriedades, embora tenha havido, nos últimos anos, crescente interesse de produtores de outras classes, adotando tecnologias avançadas (BONETT et al., 2006), incluindo a irrigação e colheita mecanizada. Portanto, atualmente, há uma valorização do grão, em virtude de a produção nacional não atender a demanda do mercado interno.

A produção mundial de feijão em 2007 ficou em torno de 19 milhões de toneladas de grãos em uma área de aproximadamente 26 milhões de hectares. Considerando somente o gênero *Phaseolus*, o Brasil é o maior produtor, seguido por

Índia, Myanmar e México (FAO, 2009). A cultura do feijão movimentou, em média, em 2001, cerca de 4,2 milhões de reais no Brasil, o que corresponde a 0,39% do Produto Interno Bruto (PIB) nacional (FERREIRA et al., 2002). No entanto, a produção brasileira de feijão em 2008 foi de 3.407.906 toneladas em uma área de 3.768.589 hectares com um rendimento médio de 904 kg/ha, um aumento na produtividade de 6,7% em relação a 2007 (CONAB, 2009). No Espírito Santo, o feijão é o terceiro produto agrícola de importância econômica, ocupando uma área de aproximadamente 21,6 mil hectares com a produção de 17,7 mil toneladas, e produtividade de 832 Kg/ha na safra de 2008/2009 (IBGE, 2009). Contudo, a produtividade brasileira é considerada muito baixa, sendo o grande número de doenças às quais ela está sujeita, uma das razões que mais influenciam no baixo rendimento da cultura (SANGLARD, 2006).

Tradicionalmente, o feijoeiro é plantado em três épocas, fevereiro-março (feijão da seca), abril-junho (feijão do inverno) e outubro-novembro (feijão das águas), o que significa que há feijoeiro no campo quase o ano todo (VIEIRA et al., 2006).

As recomendações técnicas para o cultivo do feijoeiro são de acordo com o nível tecnólogo do produtor. Sendo esse nível tecnológico dividido em uma escala de quatro, em que o nível um representa o menos tecnificado e o quatro o mais tecnificado. Os pequenos produtores quase sempre utilizam baixa tecnologia (nível um) e plantio do “feijão das águas” (SCHOONHOVEN e VOYSEST, 1991). Isso contribui para a baixa produtividade, quando a colheita ocorre em época chuvosa, prejudicando a quantidade e a qualidade dos grãos, com maior incidência de pragas, doenças e aumento de plantas daninhas (VIEIRA et al., 2006). Contudo, o potencial dessa cultura é grande, pois, em condições favoráveis, pode chegar a produzir 3500 kg/ha (FREDDI et al., 2005).

Os cultivos de feijão da seca e do inverno são praticados, principalmente, por produtores que utilizam média e alta tecnologia. Isso, devido ao fato da escassez de chuvas nessas épocas, requerer a utilização de irrigação para o cultivo do feijão do inverno. Por outro lado, nessas épocas a cultura torna-se menos dependente de fatores climáticos na colheita, por ser em época seca, proporcionando maior estabilidade de produção e maior qualidade de grãos, compensando assim, o alto investimento em tecnologia (VIEIRA et al., 2006).

2.2 Análise da diversidade genética

Estudos de diversidade genética têm sido importantes em programas de melhoramento, por fornecerem informações sobre parâmetros de identificação de genitores que possibilitem grande efeito heterótico, maior segregação em recombinantes, aumentando a probabilidade de aparecimento de genótipos superiores nas progênies (ALCÂNTARA NETO, 2001, SILVA et al., 2008). Além da possibilidade de identificar duplicatas e reduzir gastos consideráveis na manutenção de bancos de germoplasma (OLIVEIRA, 2005).

Entre as várias ferramentas utilizadas na estimativa da diversidade genética, destaca-se a utilização de marcadores moleculares e a de caracteres fenotípicos qualitativos e/ou quantitativos (VIEIRA et al., 2007).

Existem vários coeficientes de similaridade e dissimilaridade para estimar a diversidade genética. Para dados binários (dados moleculares) têm sido utilizados, o coeficiente de coincidência simples, o de Jaccard e o de Nei e Li. O coeficiente de coincidência simples tem a vantagem de ser idêntico ao quadrado da distância Euclidiana média, que é muito utilizada em se tratando de variáveis quantitativas, mas apresenta a desvantagem de considerar o número de coincidência tipo “0-0”. Esse tipo de coincidência considera que a ausência de bandas entre dois indivíduos seja um fator de similaridade entre eles, o que geralmente não é verdadeiro em alguns tipos de marcadores moleculares (RAPDs, ISSRs, dentre outros), podendo assim, superestimar a similaridade entre os indivíduos. Já os índices de Jaccard e de Nei e Li são interessantes por excluir a coincidência do tipo “0-0”. O coeficiente de Nei e Li pressupõe ainda que a coincidência do tipo “1-1”, que em certos estudos é pouco esperada, admitido um peso mais elevado (peso 2) para esse tipo de coincidência. Assim, quando o estudo for feito dentro de uma população, ou espécie, em que coincidências de ocorrência de marcas podem ser admitidas como um fenômeno esperado, recomenda-se a utilização do índice de Jaccard (CRUZ e CARNEIRO, 2006).

Para estimar a diversidade genética por meio de dados morfoagronômicos (caracteres quantitativos e qualitativos), são comumente utilizados a Distância Euclidiana, a Distância Euclidiana Média, o Quadrado da Distância Euclidiana Média e a Distância de Mahalanobis.

A distância Euclidiana avalia a divergência genética entre possíveis progenitores que enfatiza as variações de características agronômicas, morfológicas e fisiológicas (ELIAS et al., 2007). Mas seu valor aumenta com o acréscimo do número de características consideradas na análise. Então, tem-se utilizado a distância Euclidiana Média, para avaliar a dissimilaridade de caracteres quantitativos por meio do quadrado da distância Euclidiana Média. Em todos os parâmetros utilizados para cálculo das distâncias Euclidianas a escala afeta o valor obtido, sendo recomendável o cálculo das distâncias, utilizando os valores padronizados (CRUZ e CARNEIRO, 2006).

A distância generalizada de Mahalanobis oferece a vantagem sobre as distâncias Euclidianas por levar em consideração a existência de correlações entre os caracteres analisados por meio da matriz de variâncias e covariâncias residuais, porém, necessita de experimentos com repetições (BENIN et al., 2003; SANTOS, 2005; CRUZ e CARNEIRO, 2006; BERTAN et al., 2006).

A análise de agrupamento tem por finalidade reunir, por algum critério de classificação, os genitores em grupos, de tal forma que exista homogeneidade dentro do grupo e heterogeneidade entre os grupos, sendo adequada para identificar os genótipos divergentes e com maior probabilidade de sucesso nos cruzamentos (CARGNELUTTI FILHO et al., 2008).

Há inúmeros métodos de agrupamento, que se distinguem pelo tipo de resultado a ser fornecido e pelas diferentes formas de definir a proximidade entre um indivíduo e um grupo já formado ou entre dois grupos quaisquer (ELIAS et al., 2007). Dentre esses métodos, os que estão sendo mais utilizados são os métodos de otimização e os hierárquicos.

Nos métodos de otimização, a formação dos grupos é feita por meio de uma partição dos indivíduos em que otimize o número de grupos. Dentre esses métodos, destaca-se o de Tocher, sendo este o mais comumente utilizado no melhoramento genético (CRUZ e REGAZZI, 1997). Esse método adota o critério de que as médias das medidas de dissimilaridade dentro de cada grupo sejam menores que as distâncias médias entre quaisquer grupos. Assim, a introdução de um novo indivíduo no grupo pode ser calculada ou arbitrária. Isso dá a vantagem de versatilidade ao método, além de ser de fácil interpretação dos grupos formados.

Já nos métodos hierárquicos, os genótipos são agrupados por um processo que se repete em vários níveis, até que seja estabelecido o dendrograma. Não

existindo preocupação com o número ótimo de grupos (CRUZ e CARNEIRO, 2006). Dentre os métodos hierárquicos, podemos destacar os do Vizinho Mais Próximo, do Vizinho Mais Distante, Método da Ligação Média não Ponderada (UPGMA) e de Ward.

No método do Vizinho Mais Próximo, a distância entre indivíduo e grupo ou entre grupos é feita por ligações simples entre pares de indivíduos mais similares. Esse método apresenta como desvantagem a incapacidade de diferenciar grupos pobremente separados (JOHNSON e WICHERM, 1992), entretanto, evita estabelecer grupos únicos. Já o método do vizinho mais distante tem como base o inverso, ou seja, o dendrograma é estabelecido por indivíduos com maior dissimilaridade.

O método UPGMA utiliza um algoritmo de organizações sequênciais, dando pesos iguais a cada indivíduo do grupo. Entre os indivíduos, as relações topológicas são identificadas por ordem de similaridade e o dendrograma é construído passo a passo. Esse método é bastante utilizado em estudos de diversidade genética.

O agrupamento pelo método de Ward é feito a partir das somas dos quadrados dos desvios entre acessos ou a partir do quadrado da distância Euclidiana.

A escolha do método de agrupamento deve ser baseada no número final de grupos desejados, na origem dos indivíduos, ou seja, se são acessos, população natural ou controlada, e na adequação da partição dos grupos (CRUZ et al., 2004). Diversos métodos, com base em diferentes medidas de dissimilaridade, podem levar a distintos padrões de agrupamento (CRUZ e REGAZZI, 1997; MINGOTI, 2005). Assim, a escolha subjetiva do método de agrupamento ou coeficiente de similaridade pode causar problemas, comprometendo a natureza da análise (JACKSON et al., 1989).

2.3 Diversidade genética do feijoeiro

O gênero *Phaseolus* originou-se nas Américas e possui cerca de 55 espécies, das quais cinco são cultivadas: *P. vulgaris* L., *P. lunatus* L., *P. coccineus* L., *P. acutifolus* A. Gray var. latifolius Freeman e *P. polyanthus* Greenman (DEBOUCK, 1993; DELGADO-SALINAS et al., 2006). Entre elas, o feijoeiro *Phaseolus vulgaris* L,

é o mais importante, por ser a espécie cultivada mais antiga e utilizada. A espécie *P. vulgaris* é uma leguminosa anual, predominantemente autógama, domesticada há mais de 7000 anos em dois centros principais de origem: a Mesoamérica (México e a América Central) e a região Andina (GEPTS et al., 1986; KOENIG e GEPTS, 1989; KHAIRALLAH et al., 1990; KOINANGE e GEPTS, 1992; FREYRE et al., 1996; KWAK e GEPTS, 2009). Acredita-se que durante milênios os agricultores cultivaram misturas complexas de tipos de feijoeiro como cerca viva contra seca, doenças e ataques de pragas. Esse processo produziu uma diversidade genética muito grande, com uma enorme variedade de cores, textura e tamanho de grão (GUIDOLIN, 2003). Os diversos tipos de feijoeiro são cultivados desde o nível do mar até mais de três mil metros de altitude, principalmente por pequenos agricultores com menos de um hectare, sem irrigação e que usam pouco ou nenhum tipo de fertilizante ou pesticida (SCHOONHOVEN e VOYSEST, 1991).

O fato dos pequenos agricultores não adquirirem sementes comerciais para o plantio, reutilizando as suas próprias sementes ou as sementes do vizinho, pode propiciar a mistura mecânica e a ocorrência de cruzamentos naturais entre os indivíduos que são semeados anualmente (BONETT et al., 2006). Desse modo, gera uma ampla variabilidade genética em poder dos pequenos agricultores.

Os programas de melhoramento estão fundamentados na utilização da diversidade genética dentro de uma espécie para a criação e seleção de novas cultivares com elevado potencial produtivo (LOARCE et al., 1996), além da conservação dos recursos genéticos disponíveis. Portanto, torna-se necessário conhecer a diversidade genética existente entre as cultivares selvagens e as melhoradas, para subsidiar programas de melhoramento com condições de explorar a variabilidade existente e já adaptada às condições climáticas de regiões específicas (LOARCE et al., 1996; FRANCO et al., 2001). Ramalho et al. (1993) relatam que a variabilidade genética é essencial para o sucesso de programas de melhoramento de praticamente todos os caracteres de importância econômica. O melhoramento genético do feijoeiro tem como finalidades principais desenvolver genótipos para lavouras que utilizem tecnologia e para lavouras de baixa ou nenhuma tecnologia e estabelecer estratégias para o manejo de pragas e doenças em ambos os sistemas de semeadura, as quais culminem com o lançamento de novas variedades adaptadas a condições específicas.

2.3.1 Utilização de caracteres fenotípicos para estimar a diversidade genética

Caracteres fenotípicos se dividem em quantitativos e qualitativos. Os quantitativos são aqueles mensurados, que geralmente são poligênicos, ou seja, governados por vários genes, sendo esses mais influenciados pelo ambiente. Os qualitativos, também denominados de multicatégoricos, são características morfológicas da planta, sendo governadas por um ou poucos genes, e pouco influenciadas pelo ambiente.

Os caracteres qualitativos têm a sua importância na caracterização de germoplasma por sua fácil aferição, seu menor custo e por serem menos influenciados pelo ambiente do que os caracteres quantitativos (VIEIRA et al., 2008). Esses caracteres são avaliados nos programas de melhoramento vegetal, principalmente, porque estão relacionados com particularidades morfológicas e estruturais da planta que conferem qualidade ao produto comercializado, como a forma, coloração e o sabor do fruto, entre outros (CRUZ e CARNEIRO, 2006).

Os caracteres quantitativos são os mais influenciados pelo ambiente. Entretanto, esses caracteres são muito importantes na avaliação de acessos, uma vez que refletem o seu real potencial produtivo e a possibilidade de sua utilização de forma direta no melhoramento genético (VIEIRA et al., 2008), além de representarem os principais caracteres de interesse econômico.

Análises fenotípicas (quantitativas e qualitativas) combinadas com análises moleculares fornecem um quadro mais completo para o agrupamento dos genótipos e o planejamento de cruzamentos (DIAS, 1994; FERREIRA e GRATTAPAGLIA, 1998). A correlação dos dados moleculares com dados fenotípicos possibilita a geração de informações mais precisas para a escolha de genitores e obtenção da população base para o programa de melhoramento (BERED et al., 2001).

2.3.2 Utilização de marcadores moleculares para estimar a diversidade genética

Marcadores moleculares têm sido empregados como forma de avaliar a similaridade genética de modo mais preciso (BERED, 1999; BRAMMER, 2000), por não serem afetados pelo ambiente, e também por serem virtualmente ilimitados, podendo cobrir todo o genoma do organismo (SINGH et al., 1991). Atualmente, existem vários marcadores moleculares disponíveis para os mais diversos tipos de culturas.

A escolha de um marcador molecular depende da disponibilidade do marcador para a espécie em estudo, nível de polimorfismo apresentado pelo marcador, disponibilidade de informação do genoma da espécie alvo, habilidades técnicas, custo da análise, disponibilidade equipamentos, dentre outros (SOUZA et al., 2008a).

Os marcadores utilizados para avaliar a dissimilaridade genética ao nível molecular são: Random Amplified Polimorphic DNA (RAPD), Inter Simple Sequence Repeats Amplification (ISSR), Amplified Fragment Length Polimorphism (AFLP) e Simple Sequence Repeats (SSR). Todos esses marcadores utilizam a técnica da reação em cadeia da polimerase (PCR) (WILLIAMS et al., 1990).

As sequências simples repetitivas (SSR) ou microssatélites são curtas de DNA (2 a 4 pb), repetidas em “tandem”, de grande ocorrência em genomas eucariotos (LITT e LUTY, 1989). Regiões contendo SSR são amplificadas, individualmente, por meio de PCR, utilizando-se um par de *primers* específico (de 20 a 30 bases), complementares a sequências únicas que flanqueiam o microssatélite. Tendo em vista a expressão codominante e o multialelismo, os marcadores SSR são os que possuem o mais elevado conteúdo de informação genética (TAUTZ,1989; BLAIR et al., 2003; SONG et al., 2004). A alta informação contida em loco SSR, aliada à sua expressão codominante, potencial para automação e requerimento de pequena quantidade de DNA, fazem com que os SSRs sejam considerados marcadores genéticos ideais para mapeamento genético e de alta eficiência para estudos de ligação, proteção de variedades, seleção assistida, estudos de diversidade, dentre outros (SONG et al., 2004, BORÉM e CAIXETA, 2009).

Marcadores ISSR são obtidos a partir de sequências microssatélites e amplificam regiões genômicas flanqueadas pelos sítios de anelamento dos iniciadores (RATNAPARKHE et al., 1998; WOLFE et al., 1998). São utilizados *primers* únicos de tamanho em torno de 14 nucleotídeos, que podem não ser ancorados (GUPTA et al., 1994; WU et al., 1994) ou mais usualmente, ancorados na extremidade 5' ou 3', com 1 a 4 bases degeneradas (ZIETKIEWICZ et al., 1994). A âncora garante que o *primer* se anele somente na extremidade do microssatélite ou permite que somente um subconjunto de microssatélite sirva como molde para a amplificação (REEDY et al., 2002). São obtidos por reação de PCR e envolve a amplificação de regiões do DNA genômico que compreendem dois microssatélites idênticos, adjacentes e inversamente orientados, apresentando distância suficientemente amplificáveis (REDDY et al., 2002). A utilização desses marcadores não requerem informações prévias do genoma, necessitam de pequena quantidade de DNA e são altamente polimórficos (ZIETKIEWICZ et al., 1994; BORÉM e CAIXETA, 2009).

Os marcadores ISSRs têm como vantagens a alta reprodutibilidade dos resultados (SOUZA et al., 2008b) e o fato de serem multialélicos (ZIETKIEWICZ et al., 1994; BORNET e BRANCHARD, 2001; REEDY et al., 2002; MUTHUSAMY, et al., 2008). As bandas visíveis são definidas como marcadores dominantes e determinadas para locos genéticos como dois alelos, sendo os dados tabulados de forma que o número 1 indica presença e 0 ausência de banda (REDDY et al., 2002; WOLFE, 2005).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Material genético

O material genético constituiu-se de 57 acessos (Tabela 1), sendo 20 acessos fornecidos pela EMBRAPA - Trigo, 31 genótipos locais pertencentes à comunidade Fortaleza no município de Muqui-ES e 6 cultivares comerciais: Carioca, Serrano, IAPAR 31, IAPAR 44, IAPAR 81 e Pérola.

Os experimentos foram realizados na Área Experimental do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo (CCA-UFES) e no Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Espírito Santo (IFES), Campus de Alegre, localizado no distrito de Rive, Alegre, ES, nos anos agrícolas de 2008/2009 e de 2009/2010, sendo dois experimentos na área experimental do CCA-UFES (2008/2009 e 2009/2010) e um no IFES (2009/2010). O delineamento utilizado foi o de blocos casualizados (DBC) com três repetições, sendo avaliado no esquema fatorial com dois fatores (ambiente e genótipos). A unidade experimental foi composta por cinco filas de 1,2 m de comprimento, espaçadas 0,5 m, com densidade de semeadura de 10 sementes por metro linear, totalizando uma área de 3 m^2 por unidade experimental. Foi considerado como bordadura, a primeira e a última fila e a primeira e última planta de cada fila por parcela. Foram avaliadas 10 plantas ao acaso, em cada área útil de cada unidade experimental e feito uma média.

Tabela 1 - Identificação dos genótipos utilizados e origem

Identificação	Origem	Identificação	Origem
Pérola	comercial	F33	local
F2	local	F34	local
F3	local	F35	local
F5	local	F36	local
F6	local	F37	local
F7	local	F38	local
F8	local	E 01	EMBRAPA
F9	local	E 02	EMBRAPA
F10	local	E 03	EMBRAPA
F11	local	E 04	EMBRAPA
F13	local	Iapar 31	comercial
F14	local	E 06	EMBRAPA
F15	local	E 07	EMBRAPA
F16	local	E 08	EMBRAPA
F17	local	E 09	EMBRAPA
F18	local	E 10	EMBRAPA
F19	local	E 11	EMBRAPA
F20	local	E 12	EMBRAPA
F21	local	E 13	EMBRAPA
F23	local	E 14	EMBRAPA
F24	local	E 15	EMBRAPA
F25	local	E 16	EMBRAPA
F26	local	E 17	EMBRAPA
Iapar 81	comercial	E 18	EMBRAPA
F28	local	E 19	EMBRAPA
Carioca	comercial	Iapar 44	comercial
Serrano	comercial	E 21	EMBRAPA
F31	local	E 22	EMBRAPA
F32	local		

O solo foi previamente corrigido, quando se observou a necessidade de calagem (NC), sendo utilizado o método de elevação da saturação em bases para determinar a necessidade de calagem e a quantidade a ser aplicada, calculada a partir dos resultados das análises químicas do solo (Tabela 2). Elevando a saturação em bases (V_2), quando necessário, para 60%. A adubação foi realizada visando atingir uma produtividade esperada em torno de 1000 a 2000 Kg/ha, conforme recomendações de Prezotti et al., (2007).

Os solos das três áreas foram classificados como Latossolo vermelho-amarelo de textura média. As análises químicas dos solos estão demonstradas na Tabela 2. A correção e adubação foram realizadas de acordo com Prezotti et al. (2007). Dessa forma, na Área 1 foi realizada uma calagem com 0,79 t/ha, 30 dias antes do plantio, a adubação de plantio foi de 60 kg/ha de P_2O_5 e 30 kg/ha de K_2O e de cobertura de 60 kg/ha de N, 25 dias após o plantio. A Área 2 não necessitou de calagem e nem de adubação com potássio (K), mas foram utilizadas as adubações com 60 kg/ha de P_2O_5 no plantio e 60 kg/ha de N em cobertura. A Área 3 necessitou de 0,23 t/ha de calcário, 30 dias antes do plantio, 60 kg/ha de P_2O_5 e 30 kg/ha de K_2O no plantio e 60 kg/ha de N, 25 dias após o plantio.

Tabela 2 – Análise química do solo das áreas de plantio dos 57 genótipos de feijoeiro

	pH[1]	P[2]	K[3]	Ca[4]	Mg[5]	Al[6]	H + Al[7]	CTC[8]	V[9]
Área 1	5,3	3,0	17,0	1,3	0,5	0,1	2,5	4,3	42,4
Área 2	6,1	19,0	137,0	2,0	1,0	0,0	1,7	5,1	66,4
Área 3	5,9	10,0	14,0	2,2	0,8	0,0	2,0	5,5	54,9

[1]pH: potencial de hidrogênio do solo em água; [2]P: quantidade de fósforo em mg/dm^3; [3]K: quantidade de potássio em mg/dm^3; [4]Ca: quantidade de cálcio em cmol/dm^3; [5]Mg: quantidade de magnésio em cmol/dm^3; [6]Al: quantidade de alumínio em cmol/dm^3; [7]H+Al: quantidade de hidrogênio e alumínio em cmol/dm^3; [8]CTC: capacidade de troca de cátion do solo em cmol/dm^3; [9]V: saturação de bases em %.

O monitoramento de pragas foi realizado de acordo com GALO et al. (2002), e para o controle da cigarrinha verde, utilizou-se o ingrediente ativo metamidofós, recomendado para essa cultura pelo Agrofit (MAPA, 2008). Realizou-se, também, o controle de plantas daninhas até a floração, porém todos os tratos culturais foram feitos manualmente.

Os dados meteorológicos foram coletados na estação automática do INMET (convênio CCA-UFES/INMET), situada na área experimental do Centro de Ciências Agrárias da UFES em Alegre-ES (Latitude: 20 45' S, Longitude: 41 29' W, Altitude: 138 metros), demonstrados nos Gráficos 1 e 2.

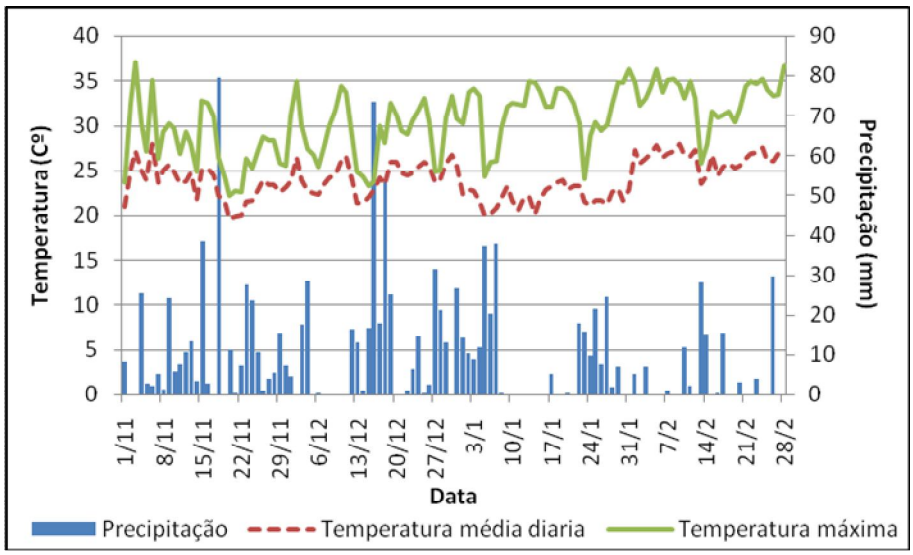

Gráfico 1 – Precipitação, temperatura média e máxima diárias do período de 1º de novembro de 2008 a 28 de fevereiro de 2009, coletados pela estação metrológica automática do INMET situada na área experimental do CCA-UFES.

Pode-se observar no Gráfico 1, que a temperatura média diária oscilou entre 19,6 a 28 ºC, e a média durante esse período do experimento foi de 24 ºC. A maior temperatura diurna, 37 ºC, foi observada no dia 03 de novembro de 2008. No Gráfico 2, pode-se observar que a temperatura média variou de 19,1 a 29,2 ºC, com uma média de 25,9 ºC. A maior temperatura diurna (37,7 ºC) foi observada nos dias 28 de novembro e também no dia 28 de dezembro de 2009. Vieira et al. (2006) relatam que a temperatura média ótima durante o ciclo cultural é de 18 a 24 ºC, sendo 21 ºC ideal.

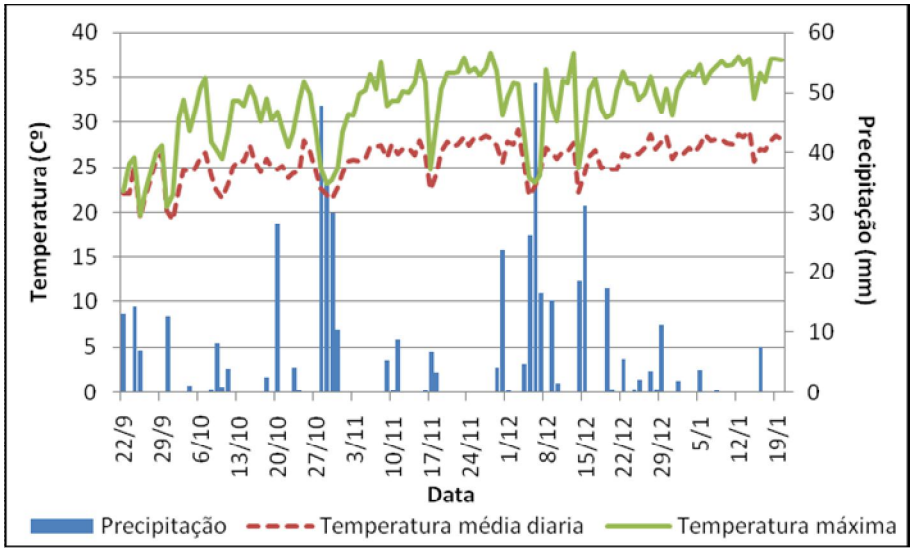

Gráfico 2 – Precipitação, temperatura média e máxima diárias de 22 de setembro de 2009 a 20 de janeiro de 2010, coletados pela estação metrológica automática do INMET, situada na área experimental do CCA-UFES.

No Gráfico 1, a precipitação acumulada foi de 962 mm e bem distribuída, já no Gráfico 2, a precipitação acumulada foi de 434,8 mm, demonstrando a menor precipitação no segundo e terceiro experimentos em relação ao primeiro. Lima et al. (2008), estudando a precipitação no município de Alegre-ES com dados de uma série histórica de 63 anos, observaram nesses quatro meses (outubro a fevereiro) uma média pluviométrica de 981,2 mm. Esse fato demonstra que ambos os períodos dos experimentos (novembro a fevereiro de 2008/09 e setembro a janeiro 2009/10), foram atípicos em relação ao volume de chuvas, sendo o segundo (Gráfico 2) com pluviosidade menor do que a média observada pelos autores. Assim, foi realizada a irrigação suplementar nos experimentos 2 e 3.

O período vegetativo médio, ou seja, dias da emergência até a floração, entre todos os genótipos foi de 36 dias. A floração ocorreu nos dias 12 de dezembro de 2008, 03 de novembro de 2009 e 16 de novembro de 2009, no primeiro, segundo e terceiro experimentos, respectivamente. Pode-se observar que a temperatura máxima nos dias próximos a 12 de dezembro no primeiro experimento, ficou em torno de 28 ºC (Gráfico 1), e a temperatura na época da floração no segundo e terceiro experimentos foi de 30 ºC. Segundo Vieira et al. (2006), temperaturas próximas a 30 ºC na floração podem aumentar a taxa de aborto de flores, diminuir a retenção de vagens e o número de vagem e de sementes por planta. Isso justifica a

menor produtividade obtida no segundo e terceiro experimentos em relação ao primeiro.

3.2 Análises morfoagronômicas

3.2.1 Análises de caracteres quantitativos

Foram avaliados 19 caracteres quantitativos, sendo dez deles indicados por Silva (2005): largura em cm da folha primária no estádio de plântula (LFP); comprimento em cm da folha primária no estádio de plântula (CFP); índice de comprimento/largura da folha primária (I L/C); peso em gramas de 100 sementes (P100), obtido conforme descrito por Brasil (1992); largura da semente em mm (LS); espessura da semente em mm (ES); comprimento da semente em mm (CS); índice comprimento/largura da semente (IS C/L); índice espessura/largura da semente (IS E/L); produtividade em Kg/ha (PROD). No entanto, outros nove caracteres foram incluídos na análise a partir de observações em trabalhos científicos publicados: altura em cm da planta em relação ao solo, no estádio de maturação fisiológica (AP); altura em cm de inserção da primeira vagem em relação ao solo, no estádio de maturação fisiológica (APV); período vegetativo; número de dias após a germinação até 50% das plantas em floração (PV); período reprodutivo, número de dias a partir de 50% das plantas em floração até a maturação colheita (PR); ciclo (soma de PR e PV, em dias); número de semente por vagem, total de sementes dividido pelo total de vagens de cada parcela (NSV); número de vagem por planta, total de vagens dividido pelo número de plantas de cada parcela (NVP); número de semente por planta, total de sementes dividido pelo número de plantas de cada parcela (NSP); peso de semente por planta, peso total de sementes dividido pelo número de plantas de cada parcela (PSP), (FONSECA e SILVA,1997; COIMBRA e CARVALHO, 1998; BONETT et al.; 2006; COELHO et al., 2007).

Os dados foram submetidos à Análise de Variância, a 5% de probabilidade pelo teste F, para constatar a existência de variabilidade entre os acessos, e para obtenção das médias e da matriz de variância e covariância residuais. Para o teste de médias foi utilizado o Scott Knott.

A partir da matriz de variância e covariância residuais, obteve-se a matriz de dissimilaridade entre os cultivares pela distância generalizada de Mahalanobis (D^2) e por meio dessa última matriz, foi possível obter a quantificação da contribuição relativa dos caracteres (SINGH, 1981). Posteriormente, obteve-se o agrupamento pela ligação média entre grupos (UPGMA). Todas as análises foram realizadas utilizando o programa computacional GENES (CRUZ, 2001).

Distância generalizada de Mahalanobis (D^2)

$$D^2_{ii'} = \delta' \Psi^{-1} \delta$$

Em que:

$D^2_{ii'}$ = distância generalizada de Mahalanobis entre os indivíduos i e i';
δ'= [d1 d2 ... dv], sendo dJ = Yij – Yi'j;
Ψ = matriz de variância e covariância residuais.

Método de agrupamento UPGMA

$$d_{(ij)k} = \text{média}\left\{d_{ik}, d_{jk}\right\} = \frac{d_{ik} + d_{jk}}{2}$$

Em que:

K= distância entre indivíduos, entre indivíduo e grupo ou entre grupos.
$d_{(ij)k}$ = distância média entre os pares de indivíduos i e j.

Para todos os dendrogramas, foram realizados pontos de corte em aproximadamente 50% de dissimilaridade, para comparar os grupos formados entre as diferentes formas de obtenção dos mesmos.

3.2.2 Análises de caracteres qualitativos

Os caracteres qualitativos avaliados foram os descritos por Silva (2005): Presença ou ausência de antocianina (pigmentação) nos cotilédones (ANTC), e no hipocótilo (ANTH); hábito de crescimento (HC); porte da planta (PP); presença ou ausência de antocianina no caule (ANTCA); cor do folíolo central do 4º nó da planta (CFC); dimensões da folha (DF); rugosidade da folha (RF); cor das asas (CA); cor do estandarte (CE); cor da vagem no estádio de maturação fisiológica (CVF); cor da vagem no estádio de maturação colheita (CVC); perfil da vagem (PV); ápice da vagem (AV); forma do dente apical da vagem (FDAV); posição do dente apical da vagem (PDAV); cor da semente (CS); presença de venações no tegumento (PVT); forma da semente (FS); halo da semente (HS); cor do halo da semente (CHS), brilho da semente (Br); grupo (Gr); peso de cem grãos (P100); forma da semente (FSem); achatamento da semente (AchSem).

Dentre os caracteres qualitativos, podem-se destacar para o melhoramento genético do feijoeiro o hábito de crescimento, porte da planta e o grupo comercial da cor da semente.

O hábito de crescimento é um caráter morfoagronômico, definido pelo crescimento do caule e o hábito de florescimento da planta, além de outras características como número de nós e tipo de ramificação. O hábito de crescimento é determinado, quando possui caule e ramos laterais terminando em uma inflorescência terminal, número limitado de nós e floração iniciando-se do ápice para a base da planta; e indeterminado, quando apresenta um crescimento contínuo, numa sucessão de nós e entrenós, inflorescências desenvolvidas nas axilas das folhas e floração iniciando-se da base para o ápice da planta (SILVA, 2005). Portanto, o ambiente pode influenciar os tipos de planta indeterminados.

O CIAT (Centro Internacional de Agricultura Tropical) caracterizou os hábitos de crescimento em quatro tipos principais (OSPINA e DEBOUCK, 1981):

Tipo I - hábito de crescimento determinado, arbustivo e porte da planta ereto;

Tipo II - hábito de crescimento indeterminado, arbustivo, porte da planta ereto e caule pouco ramificado;

Tipo III- hábito de crescimento indeterminado, porte prostrado ou semiprostrado, com ramificação bem desenvolvida e aberta;

Tipo IV- hábito de crescimento indeterminado, porte trepador; o caule possui forte dominância apical e um número reduzido de ramos laterais, pouco desenvolvidos.

Podem ocorrer hábitos intermediários entre os hábitos indeterminados, por exemplo, entre os hábitos indeterminados II / III e III / IV (SILVA, 2005).

O porte da planta pode ser classificado como ereto, quando o caule possui posição vertical e o ângulo formado com os ramos não ultrapassa 90º; semiereto, o caule mantém a posição vertical, mas o ângulo ultrapassa 90º; e prostrado quando o caule se apresenta inclinado, com tendência a prostrar-se sobre o solo e o ângulo formado pelo caule, os ramos alcançam aproximadamente 120º, provocando acentuada inclinação desses órgãos. Também pode ocorrer o tipo “semiprostrado”, quando os ramos apresentam forte inclinação, mas o caule mantém-se parcialmente ereto (FONT QUER, 1979).

A grande variabilidade apresentada pelas características externas da semente tem sido usada para diferenciar e classificar cultivares de feijão em grupos ou tipos comerciais distintos, principalmente, a cor e o tamanho da semente. Os principais grupos comerciais são: Preto, Mulatinho, Carioca, Roxinho, Rosinha, Amarelo, Manteigão, Branco, e Outros (VIEIRA,1983; VILHORDO e MÜLLER, 1981; VILHORDO et al., 1996)

Os dados foram avaliados de acordo com o método de variáveis multicatégoricas, citado por Cruz e Carneiro (2006). Para o cálculo da dissimilaridade foi utilizado a índice de dissimilaridade, sendo este igual à distância Euclidiana, e para o agrupamento foi utilizado o método UPGMA.

Índice de dissimilaridade

$$d_{ii'} = \frac{D}{C + D}$$

em que:

$d_{ii'}$ = dissimilaridade entre indivíduo;

D= discordância de categoria;

C = concordância de categoria.

Método de agrupamento UPGMA

$$d_{(ij)k} = \text{média}\{d_{ik}, d_{jk}\} = \frac{d_{ik} + d_{jk}}{2}$$

Em que:

K= distância entre indivíduos, entre indivíduo e grupo ou entre grupos.

$d_{(ij)k}$ = distância média entre os pares de indivíduos i e j.

3.3 Análises moleculares

3.3.1 Extração de DNA

Foram coletadas folhas dos 57 genótipos para a extração de DNA genômico, que foi realizada segundo o protocolo de Doyle e Doyle (1990), com algumas modificações.

Cerca de 200 a 300 mg de folhas foram triturados na presença de nitrogênio líquido, sendo o pó resultante transferido para microtubos identificados. Após a adição de 700 µL de tampão de extração constituído de 2% v/v de CTAB, 1,4 mol/L de $NaCl_2$, 20 mmol/L de EDTA, 100 mmol/L de Tris-HCl a pH 8,0; 2% p/v de Polivinilpirrolidona sólido e 0,2% v/v de β-mercaptoetanol, os tubos foram levados ao vortex por aproximadamente 20 segundos e encubados em banho-maria a 65º C por aproximadamente por 40 minutos. Posteriormente, as amostras foram centrifugadas por cinco minutos a 14000 rpm em centrífuga Heittich Zentrifugen MIKRO 200 e o sobrenadante, transferido para novos tubos.

Ao sobrenadante foi adicionado igual volume da mistura de clorofórmio: álcool isoamílico (24:1). Os tubos foram suavemente invertidos e centrifugados por cinco minutos a 14000 rpm. A fase superior foi transferida para outro tubo, sendo adicionado isopropanol gelado (na proporção de 1:1). Os tubos foram agitados suavemente algumas vezes e incubados a - 20º C por uma noite.

Após essa etapa, os tubos foram levados a centrífuga por 10 minutos a 14000 rpm, o precipitado resultante foi lavado uma vez com etanol 70% e outra vez com etanol 95%, e seco a temperatura ambiente. Esse precipitado foi resuspenso em 0,200 ml de TE (10 mmol/L de Tris-HCl, 1 mmol/L de EDTA a pH 8,0), contendo RNA na concentração final de 40 µg/mL e incubado em banho-maria a 37 ºC por uma hora e meia.

A concentração do DNA foi estimada em gel de agarose 0,8%, através da comparação com bandas produzidas pelo marcador de contração nas concentrações de 25, 50 e 100 ng/µL. Quando necessário, as amostras de DNA foram diluídas para 10 ng/µL.

3.3.2 Análises dos marcadores microssatélites

Foram selecionados marcadores SSR para feijão comum (GAITÁN-SOLÍS et al., 2002; BLAIR et al.; 2006; OLIVEIRA et al.; 2008) e os critérios de escolha foram o maior número de polimorfismo, localização do SSR nos grupos de ligação do mapa consenso do feijão (YU et al., 2000) de forma a se obter uma maior cobertura do genoma e a ligação do SSR, com características de interesse agronômicos. Na Tabela 3, são apresentados os SSR selecionados e suas informações.

Tabela 3- Sequências dos *Primers* SSR utilizados, temperatura de anelamento (Tm) e grupo de ligação (GL)

Primer	Sequência no sentido 5'3'	Tm[1] (º C)	GL[3]
PV-ctt001 F	GAGGGTGTTTCACTATTGTCACTGC	48	B04
PV-ctt001 R	TTCATGGATGGTGGAGGAACAG	48	
PV-gccacc001 F	CGTTAGATCCCGCCCAATAGT	48	B02
PV-gccacc001 R	CCGTCCAGGAAGAGCGAGC	48	
PV-ag004 F	TTGATGACGTGGATGCATTGC	48	U[4]
PV-ag004 R	AAAGGGCTAGGGAGAGTAAGTTGG	48	
X57022 F	AAG GAT GGG TTC CGT GCT TG	58/60[2]	B04
X57022 R	CAC GGT ACA AAC CAT GCT ATC	58/60[2]	
X74919 F	CCG TTG CCT GTA TTT CCC CAT	58/60[2]	B05
X74919 R	CGT GTG AAG TCA TCT GGA GTG GTC	58/60[2]	
BM141 F	TGA GA GGA ACA ATG GTG GC	55	B11
BM141 R	CTC ACA AAC CAC AAC GCA CC	55	
BM139 F	TTA GCA ATA CCG CCA TGA GAG	58/60[2]	B02
BM139 R	ACT GTA GCT CAA ACA GGG CAC	58/60[2]	
BMd10 F	GCTCACGTACGAGTTGAATCTCAG	50	B01
BMd10 R	ATCTGAGAGCAGCGACATGGTAG	50	
BM142 F	TTCCGCTGATTGGATATTAGAG	50	B02
BM142 R	AGCCCGTTCCTTCGTTTAG	50	
BM181 F	ATGCTGCGAGTTAATGATCG	50	B03
BM181 R	TGAGGAGCAAACAGATGAGG	50	
BM199 F	AAGGAGAATCAGAGAAGCCAAAAG	50	B04
BM199 R	TGAGGAATGGATGTAGCTCAGG	50	
BMd53 F	TGCTGACCAAGGAAATTCAG	50	B05
BMd53 R	GGAGGAGGCTTAAGCACAAA	50	
BM185 F	AAGGAGGTTTCTACCTAATTCC	50	B07
BM185 R	AAAGCAGGGATGTAGTTGC	50	
BM189 F	CTCCCACTCTCACCCTCACT	50	B08
BM189 R	GCGCCAAGTGAAACTAAGTAGA	50	
BMd54 F	GGCTCCACCATCGACTACTG	50	B09
BMd54 R	GAATGAGGGCGCTAAGATCA	50	
BM212 F	AGGAAGGGATCCAAAGTCACTC	50	B10
BM212 R	TGAACTTTCAGGTATTGATGAATGAAG	50	
PV ag001 F	CAATCCTCTCTCTCTCATTTCCAATC	50	B11
PV ag001 R	GACCTTGAAGTCGGTGTCGTTT	50	

[1] Temperatura de anelamento do *primer*; [2] Temperatura do ciclo 1 e do ciclo 2 de anelamento dos *primers*; [3] grupo de ligação; 4 não ligado;

As reações de amplificação dos *primers* SSR foram feitas em um volume total de 15 µL, contendo $MgCl_2$ (2,4 mM), Tris/KCl pH 8,3 (0,25 mM), dNTP (0,25mM de cada nucleotídeo), 0,6 µM de cada *primer*, uma unidade de Taq-polimerase e 30 ng de DNA.

As amplificações foram realizadas em termociclador (Thechne TC 412) com o seguinte programa: uma etapa inicial de cinco minutos a 94º C e 30 ciclos constituídos por: um minuto a 94 ºC, um minuto a 50 ºC e dois minutos a 72º C, e uma etapa final de dez minutos a 72º C. Para os *primers,* com duas temperaturas de anelamento, apenas os ciclos foram alterados, nove ciclos a 94º C, 58º C e 72º C por 20 segundos cada temperatura e mais 25 ciclos a 94º, 60º C e 72º C por vinte segundos a cada temperatura, respectivamente.

Os fragmentos amplificados de microssatélites foram separados por eletroforese em gel de agarose 3,0% contendo 0,002 v/v de brometo de etídio em 300 mL de tampão SB1X (0,04% v/v de NaOH e 0,25% v/v de ácido bórico), a 110 volts por aproximadamente três horas. Terminada a corrida, os géis foram fotografados sob luz ultravioleta, utilizando o sistema de fotodocumentação Biolocus L PIX.

O registro de dados moleculares foi feito a partir das bandas polimórficas detectadas entre os cultivares. Assim, foi gerada uma matriz de valores binários, usando a codificação 1, 2, 3, ..., n de acordo com o número de alelos para cada loco. Assim, os homozigotos foram representados por 11, 22, 33, ... nn e os heterozigotos por 12, 13, 23, ... n, sendo o valor 0 destinado à falta de informação (dado perdido) sobre o indivíduo.

Os valores de dissimilaridade genética foram estimados através do complemento aritmético do Índice Ponderado. Posteriormente foram organizadas em matrizes, para serem empregadas na análise de agrupamento pela ligação média entre grupos (UPGMA). As análises de divergência genética e de agrupamento foram realizadas com o auxílio do programa Genes (CRUZ, 2001).

Índice Ponderado

$$S_{ii'} = \frac{1}{2}\sum_{j=1}^{L} p_j c_j$$

Em que:

$S_{ii'}$= similaridade entre pares de acessos

c_j= número de alelos comuns entre os pares de acessos i e i'

$$p_j = \frac{a_j}{A}$$

aj= número total de alelos do loco j

A= número total de alelos estudados

Método de agrupamento UPGMA

$$d_{(ij)k} = \text{média}\{d_{ik}, d_{jk}\} = \frac{d_{ik} + d_{jk}}{2}$$

Em que:

K= distância entre indivíduos, entre indivíduo e grupo ou entre grupos.

$d_{(ij)k}$ = distância média entre os pares de indivíduos i e j.

3.3.3 Análises dos marcadores ISSR

Foram selecionados marcadores ISSR desenvolvidos para feijoeiro que na literatura apresentaram um maior número de polimorfismo. A Tabela 4 fornece os dados referentes a esses marcadores.

As reações de amplificação dos *primers* ISSR foram feitas em um volume total de 25 µL, contendo MgCl2 (2,4 mM), Tris/KCl pH 8,3 (0,25 mM), dNTP (0,25 mM de cada nucleotídeo), 0,2 µM do *primer*, uma unidade de Taq-polimerase e 30 ng de DNA. As amplificações foram realizadas em termociclador programado (Thechne TC 412). As condições de amplificação estão descritas na Tabela 4.

Tabela 4 - Sequência dos *Primers* ISSR utilizados e temperatura de anelamento (Tm)

Primer	Sequência no sentido 5'3'	Tm[1] (º C)
UBC841	GAGAGAGAGAGAGAGAYC	52
UBC843	CTCTCTCTCTCTCTCTRA	52
UBC854	TCTCTCTCTCTCTCTCRG	52
UBC855	ACACACACACACACACYT	52
UBC857	ACACACACACACACACYG	52
UBC859	TGTGTGTGTGTGTGTGRC	52
UBC880	GGAGAGGAGAGGAGA	52
808	AGAGAGAGAGAGAGAGC	52
810	GAGAGAGAGAGAGAGAT	52
834	AGAGAGAGAGAGAGAGYT	52
890	VHVGTGTGTGTGTGTGT	52

[1] Temperatura de anelamento do *primer*

As amplificações foram realizadas, em termociclador (Thechne TC 412) adotando o seguinte programa: quinze minutos a 94º C, 30 ciclos, sendo cada ciclo composto por três etapas: a) 30 segundos a 94º C, b) 30 segundos a 52º C e c) um minuto a 72º C, e uma etapa final de sete minutos a 72º C.

O registro de dados moleculares foi feito a partir das bandas polimórficas detectadas entre os cultivares em gel de agarose a 2,5%. Assim, foi gerada uma matriz de valores binários, onde a codificação de 0 refere-se à ausência e 1 à presença de banda.

Os valores de similaridade genética foram estimados através do Coeficiente de Jaccard. As estimativas de dissimilaridade genética ($d_{ii'}$) foram feitas de acordo com o complemento aritmético e posteriormente foram organizadas em matrizes, para serem empregadas na análise de agrupamento pela ligação média entre grupos (UPGMA). As análises de divergência genética e de agrupamento foram realizadas com o auxílio do programa Genes (CRUZ, 2001).

Coeficiente de Jaccard

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

Em que:

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

b= valor que quantifica o número de discordancia do tipo 1-0 para cada par de genótipo;

c= valor que quantifica o número de coincidência do tipo 0-1 para cada par de genótipo

Método de agrupamento UPGMA

$$d_{(ij)k} = \text{média}\left\{d_{ik}, d_{jk}\right\} = \frac{d_{ik} + d_{jk}}{2}$$

Em que:

K= distância entre indivíduos, entre indivíduo e grupo ou entre grupos.

$d_{(ij)k}$ = distância média entre os pares de indivíduos i e j.

3.4 Análises multivariadas conjuntas

Foram realizadas correlações entre as matrizes de dissimilaridades, e a significância através do teste de Mantel (citado por CRUZ, 2008), e também entre os agrupamentos através de cortes no dendrograma 50%, nos três caracteres avaliados, moleculares, quantitativos e qualitativos.

Sejam as matrizes de dissimilaridade X_{ij} e Y_{ij}

$$r = \frac{cov\ (X, Y)}{\sqrt{V(X)V\ (Y)}}$$

Em que:

Cov (X, Y)= covariância entre X e Y; e

V(X) e V(Y) = variâncias de X e Y, respectivamente.

Teste de significância de Mantel

Para 1% de probabilidade

$$r \geq \rho(S - 0{,}01S + 1)$$

Em que:

S = número de simulações

$\rho_{(i)}$ = valor crítico de significância

i = 1,2...s

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Análises da diversidade utilizando caracteres morfoagronômicos

4.1.1 Análise da diversidade utilizando caracteres quantitativos

O resumo da análise de variância conjunta apresenta diferenças significativas, a 1% de probabilidade pelo teste F para a maioria dos caracteres avaliados, sendo I L/C o único considerado não significativo, evidenciando assim, variabilidade entre os genótipos testados observados na Tabela 5. Não será considerado o ambiente nem a interação deste com os genótipos, já que o foco do trabalho é a dissimilaridade entre os genótipos. O coeficiente de variação ficou entre 2,7 a 20,86%, demonstrando uma boa consistência dos dados experimentais (Tabela 5).

Tabela 5 – Resumo da análise de variância informando os quadrados médios dos genótipos, dos ambientes e da interação entre genótipo e ambiente (Inter GxA), média e coeficiente de variação (CV), obtidos nos 19 caracteres agronômicos

	Quadrados Médios			Média	CV (%)
	Genótipos	Ambientes	Inter (GxA)		
LFP[1]	2,03**	12,66**	0,24*	5,05	8,56
CFP	1,29**	24,59**	0,35^{ns}	5,75	9,57
I L/C	0,0061^{ns}	4,08**	0,016**	0,97	6,64
AP	3544,26**	24241,89**	167,77^{ns}	60,16	20,86
APV	152,3**	256,46**	6,29**	15,37	13,03
PV	227,9**	81,69**	1,33^{ns}	36,22	6,08
PR	99,45**	104,41**	0,59*	37,31	4,43
Ciclo	224,09**	307,2**	2,1**	73,53	5,59
NSV	3,23**	0,45**	0,05^{ns}	4,12	8,23
NVP	41,62**	57,27**	1,1^{ns}	8,16	15
NSP	989,47**	1473,6**	22,11^{ns}	33,7	13,39
PSP	37,24**	296,21**	1,88**	6,98	14,33
P100	430,92**	876,04**	4,8**	21,66	4,55
PROD	1489712**	11848704**	75263**	1397,99	14,33
CS	0,197**	0,026**	0,002**	1,01	2,7
LS	0,016**	0,122**	0,001**	0,6	2,9
ES	0,019**	0,127**	0,001**	0,45	3,74
IS C/L	0,294**	0,722**	0,008**	1,68	2,85
IS E/L	0,019**	0,023**	0,001**	0,74	3,52

[1]LFP: largura da folha primaria; CFP: comprimento da folha primária; I L/C: índice entre largura e comprimento da folha primária; AP: altura da planta; APV: altura da primeira vagem; PV: período vegetativo; PR: período reprodutivo; Ciclo: ciclo; NSV: número de semente por vagem; NVP: número de vagem por planta; NSP: número de semente por planta; PSP: peso de semente por planta; P100: peso de cem grãos; PROD: produtividade; CS: comprimento da semente; LS: largura da semente; ES: espessura da semente; IS C/L: índice entre comprimento e largura da semente; IS E/L índice entre espessura e largura da semente. * e **: significativo a 5 e 1% de probabilidade, respectivamente, e ^{ns}: não significativo pelo teste “F”

A Tabela 6 apresenta as médias dos caracteres LFP, CFP, AP, APV, PV, PR e Ciclo dos 57 genótipos de feijoeiro, comparados pelo teste Sckott-knott.

As médias de LFP e também as de CFP variaram pouco entre os genótipos avaliados, sendo que a maior média de LFP foi obtida pelo genótipo F34 com 6,51 cm e a menor foi de 4,38 (F19). Para CFP, a maior média foi de 6,68 cm, obtida pelo genótipo F34 e a menor, foi do genótipo F21 com 5,04 cm.

A característica altura média de planta (AP) variou de 0 a 91,66 cm e a altura da primeira vagem (APV) de 0 a 19,84 cm (Tabela 6). Sendo considerado 0, tanto para AP quanto para APV, as plantas que demonstraram porte prostrado foram Pérola, F10, Carioca, E02 e E19.

As cultivares comerciais Serrano, Iapar 81, Iapar 44 e Iapar 31 apresentaram médias de AP que variaram de 62,66 a 91,66 cm. Para APV, a variação foi de 13,24 a 18,74 cm (Tabela 6). Segundo Coimbra et al. (1999) o maior potencial de rendimento de grãos de feijoeiro e o maior peso de grãos estão associados a menor estatura de planta e inserção da primeira vagem.

Tabela 6 – Médias dos caracteres quantitativos LFP, CFP, AP, APV, PV, PR e Ciclo, comparadas pelo teste de médias Sckott-knott

(continua)

Genótipos	LFP[1]	CFP[2]	AP[3]	APV[4]	PV[5]	PR[6]	Ciclo[7]
Pérola	4,92 b[8]	5,42 b	0,00 d	0,00 c	33,62 g	41,04 b	74,67 d
F02	4,71 b	5,27 b	75,53 a	16,47 a	37,69 e	37,24 f	74,94 d
F03	4,69 b	5,16 b	70,23 b	14,14 b	35,66 f	35,72 g	71,38 e
F05	4,45 b	5,21 b	60,86 b	12,71 b	40,76 c	35,72 g	76,49 c
F06	4,74 b	5,52 b	52,38 b	15,39 b	36,43 e	36,98 f	73,42 d
F07	5,22 b	5,94 a	70,99 b	17,80 a	36,25 f	37,24 f	73,50 d
F08	5,94 a	6,17 a	71,24 b	18,08 a	31,31 i	43,57 a	74,88 d
F09	5,93 a	6,21 a	35,51 c	15,87 a	27,58 j	34,96 h	62,55 h
F10	5,33 b	6,02 a	0,00 d	0,00 c	60,12 a	28,99 l	89,11 a
F11	4,78 b	5,18 b	63,68b	14,68 b	36,70 e	38,00 e	74,71 d
F13	4,70 b	5,33 b	75,69 a	18,31 a	36,51 e	35,98 g	72,49 e
F14	5,19 b	6,01 a	68,15 b	19,15 a	35,40 f	39,27 d	74,68 d
F15	4,59 b	5,81 a	67,14 b	13,78 b	41,53 c	36,98 f	78,52 b
F16	4,69 b	5,78 a	84,92 a	16,91 a	44,57 b	31,16 k	75,73 d
F17	4,63 b	5,20 b	61,77 b	14,16 b	38,73 d	32,17 j	70,90 e
F18	4,49 b	5,83 a	69,60 b	16,23 a	41,39 c	35,97 g	77,37 c
F19	4,38 b	5,57 b	63,15 b	14,84 b	35,18 f	38,76 e	73,94 d
F20	5,39 b	5,59 b	82,31 a	16,79 a	40,26 c	39,77 c	80,04 b
F21	4,41 b	5,04 b	55,51 b	11,57 b	34,90 g	37,75 e	72,66 e
F23	4,88 b	5,69 b	72,98 a	17,46 a	39,58 d	36,48 f	76,07 d
F24	5,17 b	5,65 b	72,27 b	17,19 a	39,27 d	35,72 g	75,00 d
F25	4,85 b	6,02 a	61,55 b	16,68 a	33,68 g	37,24 f	70,93 e
F26	5,27 b	5,93 a	57,27 b	16,23 a	38,45 d	33,19 i	71,64 e
Iapar 81	4,67 b	5,88 a	66,21 b	15,07 b	37,27 e	39,52 d	76,79 c
F28	4,58 b	5,56 b	52,11 b	16,27 a	32,89 h	41,55 b	74,44 d
Carioca	5,27 b	6,08 a	0,00 d	0,00 c	34,61 g	35,98 g	70,59 e
Serrano	5,02 b	5,90 a	91,66 a	18,74 a	35,88 f	39,27 d	75,15 d
F31	5,80 a	6,20 a	39,73 c	17,84 a	27,81 j	39,51 d	67,33 f
F32	6,13 a	6,63 a	40,44 c	17,21 a	28,85 j	36,98 f	65,84 g
F33	5,89 a	5,76 a	35,68 c	16,61 a	32,85 h	33,19 i	66,04 g
F34	6,51 a	6,69 a	34,97 c	16,49 a	28,09 j	34,20 h	62,29 h
F35	4,65 b	5,51 b	80,68 a	16,59 a	39,49 d	38,00 e	77,49 c
F36	6,22 a	6,24 a	49,29 b	14,23b	45,86 b	33,44 i	79,30 b
F37	4,85 b	5,46 b	60,03 b	16,58 a	30,80 i	40,03 c	70,84 e
F38	4,74 b	5,36 b	60,61 b	19,18 a	40,63 c	33,19 i	73,82 d

Tabela 6 – Médias das características quantitativas LFP, CFP, AP, APV, PV, PR e Ciclo, comparadas pelo teste de médias Sckott-knott

(conclusão)

Genótipos	LFP[1]	CFP[2]	AP[3]	APV[4]	PV[5]	PR[6]	Ciclo[7]
E01	4,83 b	5,47 b	57,03 b	14,78 b	34,92 g	36,23 g	71,16 e
E02	5,60 a	6,38 a	0,00 d	0,00 c	35,94 f	37,74 e	73,68 d
E03	5,24 b	5,67 b	61,46 b	17,40 a	34,16 g	41,29 b	75,46 d
E04	4,96 b	6,04 a	80,75 a	10,84 b	36,22 f	35,72 g	71,95 e
Iapar 31	4,94 b	5,75 a	62,66 b	16,62 a	36,51 e	35,72 g	72,23 e
E06	5,23 b	6,12 a	73,68 a	16,09 a	34,16 g	36,48 f	70,65 e
E07	5,12 b	6,16 a	61,73 b	15,91 a	33,94 g	32,43 j	66,37 g
E08	4,76 b	5,73 b	54,63 b	16,42 a	35,26 f	39,52 d	74,79 d
E09	4,73 b	5,30 b	63,28 b	17,76 a	35,49 f	40,28 c	75,77 d
E10	5,09 b	5,95 a	60,52 b	18,34 a	32,64 h	43,32 a	75,96 d
E11	5,23 b	5,94 a	69,23 b	19,84 a	37,27 e	41,55 b	78,82 b
E12	4,72 b	5,25 b	65,94 b	16,81 a	40,76 c	39,01 d	79,78 b
E13	5,20 b	5,94 a	66,91 b	16,72 a	34,44 g	42,05 b	76,50 c
E14	4,88 b	5,54 b	70,75 b	16,83 a	35,74 f	43,06 a	78,81 b
E15	4,91 b	5,63 b	66,41 b	17,57 a	38,31 d	36,98 f	75,30 d
E16	5,27 b	6,27 a	63,73 b	18,49 a	35,40 f	36,47 f	71,88 e
E17	5,09 b	5,71 b	65,39 b	17,46 a	37,27 e	35,72 g	72,99 e
E18	4,81 b	5,91 a	57,11 b	15,32 b	32,35 h	36,23 g	68,59 f
E19	5,22 b	5,96 a	0,00 d	0,00 c	34,42 g	41,04 b	75,46 d
Iapar 44	4,45 b	5,47 b	64,37 b	13,24 b	37,45 e	40,28 c	77,74 c
E21	4,68 b	5,07 b	42,77 c	12,40 b	33,88 g	41,55 b	75,43 d
E22	4,97 b	5,57 b	30,70 c	13,33 b	27,33 j	29,13 l	56,47 i

[1] LFP: largura da folha primária; [2]CFP: comprimento da folha primária; [3]AP: altura da planta; [4]APV: altura da primeira vagem; [5]PV: período vegetativo; [6]PR: período reprodutivo; [7] Ciclo: ciclo; [8] Médias seguidas pela mesma letra na vertical não difere estatisticamente entre si, pelo teste de Sckott-knott a 5% de probabilidade.

O PV médio variou de 27,33 (genótipo E22) a 60,12 dias (genótipo F10), e o PR médio variou de 28,99 (genótipo F10) a 43,57 dias (genótipo F08). Já o menor ciclo médio observado foi de 56,47 e o maior de 89,11 dias, observados nos genótipos E22 e F10, respectivamente. Coimbra et al. (1999) concluíram que plantas de maturação precoce e de estatura elevada incrementaram o número de vagem por planta e consequentemente a produtividade média do feijoeiro. Isso indica que esses genótipos podem ser selecionados para genitores para a obtenção de uma população com maior produtividade.

Na Tabela 7, estão apresentadas as médias dos caracteres NSV, NVP, NSP, PSP, P100 e PROD dos 57 genótipos de feijoeiro, comparadas pelo teste Sckott-knott.

A média de NSV variou de 2,76, para o genótipo F34, sendo que este genótipo não diferiu estatisticamente, para esta variável, dos genótipos F09, E22, F07, F08, F36 e F20a 5,25. O genótipo F25 obteve a maior média de NSV (5,25), com média geral de 4,12 sementes por vagem. A menor média de NVP observada entre os genótipos foi 2,03 para o genótipo F36. A maior média foi do F03 com 13,22 vagens por planta, sendo a média geral de 8,16. Para NSP foram observadas médias variando de 6,37 para o genótipo F36 a 54,62 para o genótipo E06 e a média geral entre os genótipos observada foi de 33,7 para a característica número de sementes por planta. Trabalhos realizados por meio de análise de trilha do rendimento de grãos em feijoeiro demonstram uma correlação direta dessas variáveis (NSV, NVP e NSP) com a maior produtividade (COIMBRA et al., 1999, KUREK et al., 2001 e FURTADO et al., 2002).

Analisando o peso de sementes por planta (PSP) observou-se uma grande variação entre as médias obtidas pelos genótipos, sendo que a menor foi obtida pelo F36 (2,49) e a maior pelo E06 (12,22), e a média geral foi de 6,98. A avaliação do peso de cem grãos por planta (P100) é muito importante, uma vez que esta característica está diretamente correlacionada com a produtividade e é uma das variáveis que diferenciam os centros de origem (centros de domesticação) do feijoeiro (KHAIRALLAH et al., 1990; KOINANGE e GEPTS, 1992; FREYRE et al., 1996; DE LA CRUZ et al., 2005; PEREIRA et al., 2009; KWAK e GEPTS, 2009). O valor de P100 variou de 14,24 g paro o genótipo F15, não diferindo estatisticamente dos genótipos F18, F38, F23, F35, F16, Serrano e E01. A maior média foi do genótipo F34 com 46,02 g, com uma média geral entre os genótipos de 21,66 g.

Tabela 7 – Médias de NSV, NVP, NSP, PSP, P100 e PROD dos 57 genótipos de feijoeiro, comparadas pelo teste de médias Sckott-knott

(continua)

Genótipos	NSV[1]	NVP[2]	NSP[3]	PSP[4]	P100[5]	PROD[6]
Pérola	4,00 c	6,22 e	24,23 e	5,84 d	23,93 g	1169,59 d
F02	3,54 c	5,59 e	19,55 f	4,25 e	21,68 h	850,24 e
F03	4,27 b	13,22 a	53,34 a	9,97 b	18,48 j	1995,17 b
F05	3,81 c	8,67 c	34,22 c	5,88 d	17,13 k	1177,70 d
F06	4,20 b	7,40 d	30,84 d	5,28 d	17,03 k	1056,12 d
F07	2,96 d	5,94 e	17,48 f	3,44 e	19,77 i	689,60 e
F08	3,18 d	5,22 e	16,50 f	6,86 c	41,37 b	1372,55 c
F09	2,88 d	8,41 c	23,71 e	8,64 b	36,37 d	1728,00 b
F10	3,91 c	3,03 f	16,01 f	2,83 e	17,81 k	567,58 e
F11	4,78 a	9,01 c	44,12 b	8,21 c	18,50 j	1642,38 c
F13	4,41 b	8,06 d	33,78 c	6,24 d	18,06 j	1248,71 d
F14	4,93 a	9,03 c	43,79 b	7,72 c	17,62 k	1545,68 c
F15	3,65 c	6,15 e	22,31 e	3,18 e	14,24 l	637,21 e
F16	3,64 c	5,39 e	19,46 f	3,05 e	15,77 l	611,24 e
F17	3,84 c	9,44 c	35,89 c	6,41 c	17,76 k	1283,91 c
F18	3,66 c	6,67 e	23,10 e	3,33 e	14,52 l	666,30 e
F19	4,91 a	8,70 c	42,35 c	7,73 c	18,21 j	1546,72 c
F20	3,43 d	5,87 e	20,59 f	3,76 e	18,16 j	753,90 e
F21	4,04 c	9,90 c	38,19 c	7,22 c	18,84 j	1444,23 c
F23	3,70 c	12,78 a	44,19 b	6,85 c	15,28 l	1371,06 c
F24	4,77 a	9,17 c	43,94 b	7,68 c	17,42 k	1536,21 c
F25	5,25 a	7,51 d	39,09 c	6,97 c	17,73 k	1395,40 c
F26	4,59 b	7,45 d	34,47 c	7,58 c	21,97 h	1517,50 c
Iapar 81	3,58 c	7,59 d	26,72 d	5,61 d	20,92 i	1123,78 d
F28	4,52 b	8,50 c	38,53 c	6,63 c	16,97 k	1327,27 c
Carioca	4,06 c	7,96 d	30,41 d	6,77 c	22,10 h	1355,52 c
Serrano	4,45 b	8,66 c	38,38 c	6,13 d	16,04 l	1238,59 d
F31	3,49 c	7,14 d	24,54 e	8,92 b	36,20 d	1785,90 b
F32	3,64 c	6,74 e	24,82 e	7,41 c	29,96 e	1482,01 c
F33	4,13 b	5,87 e	22,11 e	8,09 c	36,38 d	1618,03 c
F34	2,76 d	6,40 e	17,26 f	7,98 c	46,02 a	1596,01 c
F35	4,40 b	8,45 c	36,93 c	5,88 d	15,74 l	1177,28 d
F36	3,38 d	2,03 f	6,37 g	2,49 e	38,99 c	499,42 e
F37	4,24 b	8,35 c	37,34 c	6,80 c	18,20 j	1360,37 c
F38	4,67 a	7,88 d	36,38 c	5,50 d	15,07 l	1100,48 d
E01	4,07 c	9,43 c	37,90 c	6,42 c	16,68 l	1285,18 c
E02	4,01 c	7,59 d	29,83 d	6,84 c	22,87 g	1368,04 c
E03	4,49 b	7,80 d	33,32 c	6,37 c	19,15 j	1275,21 c
E04	4,43 b	9,35 c	41,17 c	7,94 c	19,24 j	1589,54 c

Tabela 7 – Médias de NSV, NVP, NSP, PSP, P100 e PROD dos 57 genótipos de feijoeiro, comparadas pelo teste de médias Sckott-knott

(conclusão)

Genótipos	NSV[1]	NVP[2]	NSP[3]	PSP[4]	P100[5]	PROD[6]
Iapar 31	5,08 a	7,64 d	38,52 c	9,03 b	23,23 g	1807,23 b
E06	5,08 a	11,02 b	54,62 a	12,22 a	22,27 h	2444,52 a
E07	3,98 c	10,75 b	42,09 c	9,14 b	21,59 h	1828,51 b
E08	4,29 b	8,98 c	38,23 c	7,84 c	20,13 i	1569,12 c
E09	5,22 a	10,19 c	52,85 a	9,00 b	16,89 k	1801,26 b
E10	4,08 c	8,80 c	35,82 c	9,53 b	26,39 f	1906,29 b
E11	5,15 a	6,67 e	35,00 c	7,50 c	21,06 h	1500,37 c
E12	3,80 c	6,24 e	22,79 e	5,12 d	22,36 h	1024,89 d
E13	3,98 c	11,56 b	46,83 b	9,75 b	20,63 i	1950,53 b
E14	4,22 b	9,53 c	38,58 c	7,80 c	20,21 i	1560,13 c
E15	4,72 a	8,06 d	37,70 c	7,42 c	19,61 i	1484,14 c
E16	3,98 c	13,18 a	50,72 a	10,97 a	21,39 h	2194,06 a
E17	4,44 b	8,13 d	35,61 c	7,57 c	21,23 h	1514,44 c
E18	4,16 b	10,78 b	45,12 b	9,51 b	20,78 i	1903,49 b
E19	4,53 b	7,91d	35,67 c	7,56 c	21,17 h	1512,52 c
Iapar 44	4,46 b	7,97 d	37,41 c	7,24 c	19,25 j	1448,41 c
E21	4,28 b	10,04 c	41,67 c	8,04 c	19,25 j	1609,98 c
E22	2,93 d	9,56 c	28,21 d	8,17 c	28,99 e	1635,78 c

[1]NSV: número de semente por vagem; [2]NVP: número de vagem por planta; [3]NSP: número de semente por planta; [4]PSP: peso de semente por planta; [5]P100: peso de cem grãos; [6]PROD: produtividade; [2] Médias seguidas pela mesma letra na vertical não difere estatisticamente entre si, pelo teste de Sckott-knott a 5% de probabilidade.

A maior produtividade média foi obtida pelo genótipo E06 com 2444,52 kg/ha, sendo estatisticamente igual a média obtida pelo genótipo E16 com 2194,06 kg/ha, A menor média encontrada foi do genótipo F36 com 499,42 kg/ha, não diferindo estatisticamente das médias dos genótipos F10, F16, F15, F18, F07, F20 e F02, sendo a média geral de 1397,99 kg/ha, observado na Tabela 7.

As cultivares comerciais Pérola, Iapar 81, Carioca, Serrano, Iapar 31 e Iapar 44, obtiveram rendimento (PROD) de 1169,59, 1123,78, 1355,52, 1238,59, 1807,23 e 1448,41 kg/ha (Tabela 7), respectivamente. Cargnelutti Filho et al. (2009) observaram uma produtividade média das cultivares Iapar 44 e Carioca de 1036 e 1498 kg/ha, respectivamente, valores estes, próximos aos que foram encontrados neste estudo.

Na Tabela 8 são apresentadas as médias dos caracteres CS, LS, ES, IS C/L e IS E/L dos 57 genótipos de feijoeiro comparadas pelo teste Sckott-knott.

O caracter CS apresentou uma variação de 0,86 cm para os genótipos F19, F23 e F35 a 1,59 cm para o genótipo F34, com média geral foi de 1,01 cm. A avaliação do CS se faz importante, uma vez que em associação com o valor de P100, pode-se inferir com maior segurança a respeito do centro de origem do genótipo. Singh et al. (1991) relataram que as cultivares Andinas têm sementes grandes e pesadas, enquanto as Mesoamericas têm sementes pequenas e leves.

Os genótipos F08, F34 e F36, apresentaram sementes grandes e pesadas, podendo ser caracterizados como de origem Andina. Os genótipos F09, com P100 de 36,37g e CS de 1,04 cm, o genótipo F31 com P100 de 36,2 g e CS de 1,35 e o genótipo com F33 P100 de 36,38 g e CS de 1,04 cm também podem ser considerados de origem Andina, devido o peso de sementes ser o principal fator determinante. Já os genótipos F32 com P100 de 29,96 g e CS de 1,35 cm e o E22 com P100 de 28,99 g e CS de 1,33 cm devem ser melhor estudados quanto à sua origem. Alzate-Marin et al. (2003) relatam a possibilidade de linhagens terem uma baixa porcentagem de genes Andinos apesar do alto peso e tamanho das suas sementes, o que pode dificultar a caracterização desses genótipos. Segundo Kwak e Gepts (2009) existem dois centros de origem principais (Andino e Mesoamericano) e vários secundários que têm linhagens diferentes (morfológica e geneticamente) mais dentro do seu “pool” de genes.

Os genótipos F08, F09, F31, F32, F33, F34, F36 e E22 foram classificados como sendo de origem Andina ou próxima (F32 e E22) e as cultivares comerciais (Pérola, Iapar 81, Carioca, Serrano, Iapar 31 e Iapar 44) e o restante dos genótipos foram classificados como de origem Mesoamericana.

Tabela 8 – Médias de CS, LS, ES, IS C/L e IS E/L dos 57 genótipos de feijoeiro, comparadas pelo teste de médias Sckott-knott

(continua)

Genótipos	CS[1]	LS[2]	ES[3]	IS C/L[4]	IS E/L[5]
Pérola	0,95 f	0,64 c	0,46 d	1,48 h	0,72 d
F02	0,99 e	0,62 c	0,45 d	1,59 g	0,73 d
F03	0,89 g	0,57 d	0,43 d	1,55 g	0,75 d
F05	0,92 f	0,58 d	0,44 d	1,58 g	0,75 c
F06	0,93 f	0,55 e	0,44 d	1,69 f	0,81 b
F07	0,98 e	0,58 d	0,48 c	1,70 f	0,82 b
F08	1,42 b	0,71 a	0,54 b	1,99 c	0,76 c
F09	1,04 d	0,68 b	0,60 a	1,53 h	0,88 a
F10	0,95 f	0,54 e	0,41 e	1,73 e	0,77 c
F11	0,98 e	0,57 d	0,45 d	1,70 f	0,78 c
F13	0,88 g	0,61 c	0,45 d	1,44 h	0,73 d
F14	0,93 f	0,59 d	0,42 e	1,57 g	0,70 d
F15	0,89 g	0,53 e	0,40 e	1,65 f	0,75 c
F16	1,00 e	0,57 d	0,41 e	1,74 e	0,71 d
F17	0,99 e	0,54 e	0,40 e	1,83 d	0,75 d
F18	0,90 g	0,52 e	0,41 e	1,71 f	0,78 c
F19	0,86 g	0,55 e	0,45 d	1,57 g	0,82 b
F20	1,02 e	0,56 e	0,46 d	1,81 d	0,81 b
F21	0,91 g	0,59 d	0,45 d	1,53 h	0,77 c
F23	0,86 g	0,55 e	0,38 f	1,57 g	0,69 e
F24	0,93 f	0,58 d	0,41 e	1,59 g	0,71 d
F25	0,96 f	0,54 e	0,37 f	1,79 d	0,70 e
F26	0,96 f	0,60 c	0,44 d	1,58 g	0,72 d
Iapar 81	1,02 e	0,61 c	0,45 d	1,67 f	0,73 d
F28	0,93 f	0,53 e	0,39 f	1,76 e	0,74 d
Carioca	0,96 f	0,57 d	0,45 d	1,67 f	0,79 c
Serrano	0,89 g	0,56 e	0,41 e	1,60 g	0,74 d
F31	1,35 c	0,61 c	0,48 c	2,19 b	0,78 c
F32	1,35 c	0,60 c	0,44 d	2,22 b	0,73 d
F33	1,04 d	0,70 a	0,60 a	1,48 h	0,84 b
F34	1,59 a	0,67 b	0,56 b	2,37 a	0,84 b

Tabela 8 – Médias de CS, LS, ES, IS C/L e IS E/L dos 57 genótipos de feijoeiro, comparadas pelo teste de médias Sckott-knott

(conclusão)

Genótipos	CS[1]	LS[2]	ES[3]	IS C/L[4]	IS E/L[5]
F35	0,86 g	0,55 e	0,42 e	1,55 g	0,75 c
F36	1,37 c	0,68 b	0,50 c	2,03 c	0,73 d
F37	1,02 e	0,59 d	0,41 e	1,72 f	0,7 e
F38	0,92 f	0,56 e	0,41 e	1,63 g	0,73 d
E01	1,01 e	0,59 d	0,36 f	1,71 f	0,61 f
E02	1,08 d	0,62 c	0,48 c	1,74 e	0,77 c
E03	0,92 f	0,61 c	0,43 d	1,52 h	0,71 d
E04	0,96 f	0,59 d	0,44 d	1,61 g	0,74 d
Iapar 31	0,99 e	0,62 c	0,46 d	1,59 g	0,73 d
E06	1,08 d	0,65 b	0,44 d	1,66 f	0,68 e
E07	1,03 e	0,61 c	0,41 e	1,68 f	0,67 e
E08	1,03 e	0,61 c	0,45 d	1,67 f	0,73 d
E09	0,94 f	0,60 d	0,43 e	1,56 g	0,71 d
E10	1,05 d	0,63 c	0,46 d	1,67 f	0,73 d
E11	1,01 e	0,63 c	0,46 d	1,60 g	0,73 d
E12	1,02 e	0,63 c	0,45 d	1,61 g	0,71 d
E13	0,97 f	0,61 c	0,41 e	1,57 g	0,67 e
E14	1,00 e	0,58 d	0,44 d	1,71 f	0,76 c
E15	0,94 f	0,59 d	0,45 d	1,59 g	0,76 c
E16	1,02 e	0,62 c	0,45 d	1,64 f	0,73 d
E17	1,00 e	0,60 d	0,46 d	1,67 f	0,76 c
E18	0,91 g	0,61 c	0,43 d	1,48 h	0,71 d
E19	1,00 e	0,60 d	0,44 d	1,67 f	0,74 d
Iapar 44	0,94 f	0,57 d	0,43 d	1,66 f	0,76 c
E21	0,97 e	0,62 c	0,43 d	1,56 g	0,69 e
E22	1,33 c	0,68 b	0,53 b	1,94 c	0,77 c

[1]CS: comprimento da semente; [2]LS: largura da semente; [3]ES: espessura da semente; [4]IS C/L: índice entre comprimento e largura da semente; [5]IS E/L índice entre espessura e largura da semente. Médias seguidas pela mesma letra na vertical não difere estatisticamente entre si, pelo teste de Sckott-knott, a 5% de probabilidade.

A largura da semente (LS) variou de 0,52 cm para os genótipos F18, F15 e F28 a 0,71 cm para os genótipos F08 e F33, com média geral de 0,6 cm. A menor ES foi de 0,36 para o genótipo E01 e a maior de 0,6 cm observadas nos genótipos F09 e F33, com média geral de ES de 0,45 cm. Já o IS C/L variou de 1,44 para o genótipo F13 a 2,37 para o genótipo F34, com média geral entre os genótipos de 1,68. O IS E/L menor foi observado no genótipo E01 (0,61); a maior, no genótipo F09 (0,88), com média de 0,74.

Assim, de acordo com Puerta Romero citado por Silva (2005), a classificação das sementes quanto à forma é obtida pela relação entre comprimento e largura (C/L), em: esférica (1,16 a 1,42 mm); elíptica (1,43 a 1,65 mm); oblonga/reniforme curta (1,66 a 1,85 mm); oblonga/reniforme média (1,86 a 2,00) e oblonga/Reniforme longa (> 2,00). A classificação quanto ao perfil é feita de acordo com a relação espessura/largura (E/L), achatada (E/L menor que 0,69 mm), semi-achatada (E/L variando de 0,70 a 0,79 mm) e cheia (E/L maior que 0,80).

Avaliando a correlação entre as variáveis, foi observada correlação perfeita (1,0) entre as variáveis PSP e a PROD, o que era esperado, já que a variável PROD é calculada através da variável PSP. Assim, segundo Cruz e Carneiro (2006), a presença de correlação alta ou perfeita, pode levar à estimativa de valores absurdos ou sem nenhuma coerência com o fenômeno biológico em estudo. Desse modo, a variável PSP foi excluída das análises, pelo fato dessa variável ser considerada de menor valor agronômico em relação à variável PROD.

Segundo Arunachalan, citado por Cruz e Carneiro (2006), em estudos de diversidade genética, vários caracteres com graus significativos de correlações são avaliados, sendo desaconselhável o uso da distância Euclidiana, e recomendável a distância generalizada de Mahalanobis (D^2) por levar em consideração as associações (correlações) entre as características por meio da matriz de variâncias e covariâncias residuais entre as variáveis.

Portanto, a partir das médias das 19 variáveis, dos 57 genótipos e da matriz de variância e covariância residuais, foi obtida a matriz de dissimilaridade pela distância generalizada de Mahalanobis. A frequência da dissimilaridade entre os genótipos está demonstrada no Gráfico 3. O agrupamento foi calculado através do método UPGMA.

O Gráfico 3 apresenta a análise da distribuição das frequências da dissimilaridade, em porcentagem, de 1596 combinações aos pares dos 57 genótipos de feijoeiro. A menor dissimilaridade observada foi entre os genótipos F15 e F18 (9,18) e a maior (2308,62) entre os genótipos F10 e F08. Percebe-se ainda, uma concentração da dissimilaridade de mais de 64% na classe de 0,0 a 0,09, demonstrando uma pequena variabilidade entre os genótipos em estudo.

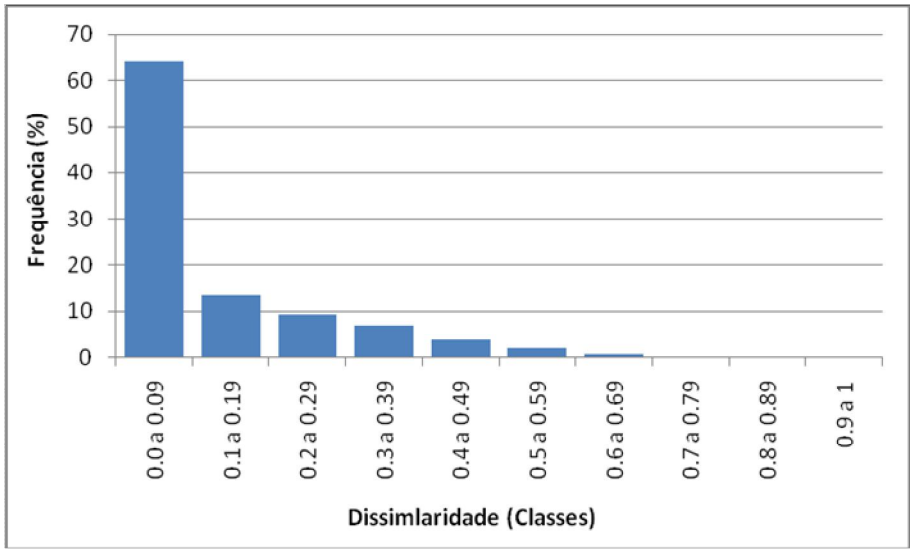

Gráfico 3 – Distribuição de frequência da dissimilaridade obtida a partir de caracteres quantitativos dos 57 genótipos de feijoeiro.

Essa grande concentração da dissimilaridade genética na menor classe (0,0 a 0,09) pode ser devido à grande divergência entre o genótipo F10, em relação ao outros genótipos, já que as dissimilaridades observadas são uma percentagem da maior dissimilaridade.

Na Tabela 9 é apresentada a importância relativa (S.j) de cada um dos 18 caracteres agronômicos para o estudo da diversidade genética entre os 57 genótipos de feijoeiro. Pode-se observar que as variáveis com as maiores contribuições relativas foram P100 (24,01%), seguida por PV (20,39%), PR (17,16%) e CS (14,87%). Resultados semelhantes foram demonstrados por Coelho et al. (2007), Elias et al. (2007), que observaram que a variável P100 foi a de maior contribuição na separação dos acessos de feijoeiro. Possivelmente, por esse ser um

caráter de herança qualitativa, pouco influenciado pelo ambiente e controlado por poucos genes (RAMALHO et al., 1993).

Tabela 9 – Importância relativa (S.j) de caracteres agronômicos para o estudo da diversidade genética entre 57 genótipos de feijoeiro

Variáveis	S.j	S.j (%)
P100[1]	205542,9	24,0102
PV	174568,7	20,392
PR	146914,3	17,1616
CS	127361,3	14,8775
ciclo	87333,74	10,2018
ES	31689,2	3,7017
LS	21898,32	2,558
APV	14867,23	1,7367
PROD	10924,11	1,2761
IS C/L	6659,444	0,7779
NSV	6383,486	0,7457
NSP	5343,302	0,6242
AP	4980,439	0,5818
NVP	3352,771	0,3916
LFP	3166,552	0,3699
IS E/L	2336,832	0,273
CFP	1768,321	0,2066
I L/C	973,4555	0,1137

[1] P100: peso de cem grãos; PV: período vegetativo; PR: período reprodutivo; CS: comprimento da semente; Ciclo: ciclo; ES: espessura da semente; LS: largura da semente; APV: altura da primeira vagem; PROD: produtividade; IS C/L: índice entre comprimento e largura da semente; NSV: número de semente por vagem; NSP: número de semente por planta; AP: altura da planta; NVP: número de vagem por planta; LFP: largura da folha primária; IS E/L índice entre espessura e largura da semente; CFP: comprimento da folha primaria; I L/C: índice entre largura e comprimento da folha primária.

A produtividade, apesar de se enquadrar como um caráter importante na separação dos acessos, teve baixo fator discriminante entre os genótipos, o que pode ser explicado pela alta heterogeneidade produtiva, observada entre os genótipos em geral, como também foi estudado por Coelho et al. (2007).

As variáveis que menos contribuíram para diferenciar os genótipos foram: I L/C (0,1137 %), CFP (0,2066 %), IS E/L (0,273 %), LFP (0,3699 %) e NVP (0.3916

%). Rodrigues et al. (2002) concluíram que as variáveis de menor importância para diferenciar as cultivares locais e melhoradas de feijoeiro foram o índice comprimento e largura da folha, largura e comprimento da folha primária, grau de achatamento da semente e forma da semente. Cruz e Carneiro (2006) relataram que as características de menor importância para estimar a diversidade entre indivíduos são as que apresentam menor variabilidade ou que estão representadas por outras.

Cruz e Carneiro (2006) recomendam a utilização da distância generalizada de Mahalanobis, quando o delineamento experimental contempla repetição, permitindo a quantificação dos efeitos do ambiente sobre as constituições genéticas. Assim, na Figura 1, é demonstrado o dendrograma obtido pela distância generalizada de Mahalanobis com o método de agrupamento UPGMA, através das médias dos 18 caracteres quantitativos observados nos 57 genótipos de feijoeiro.

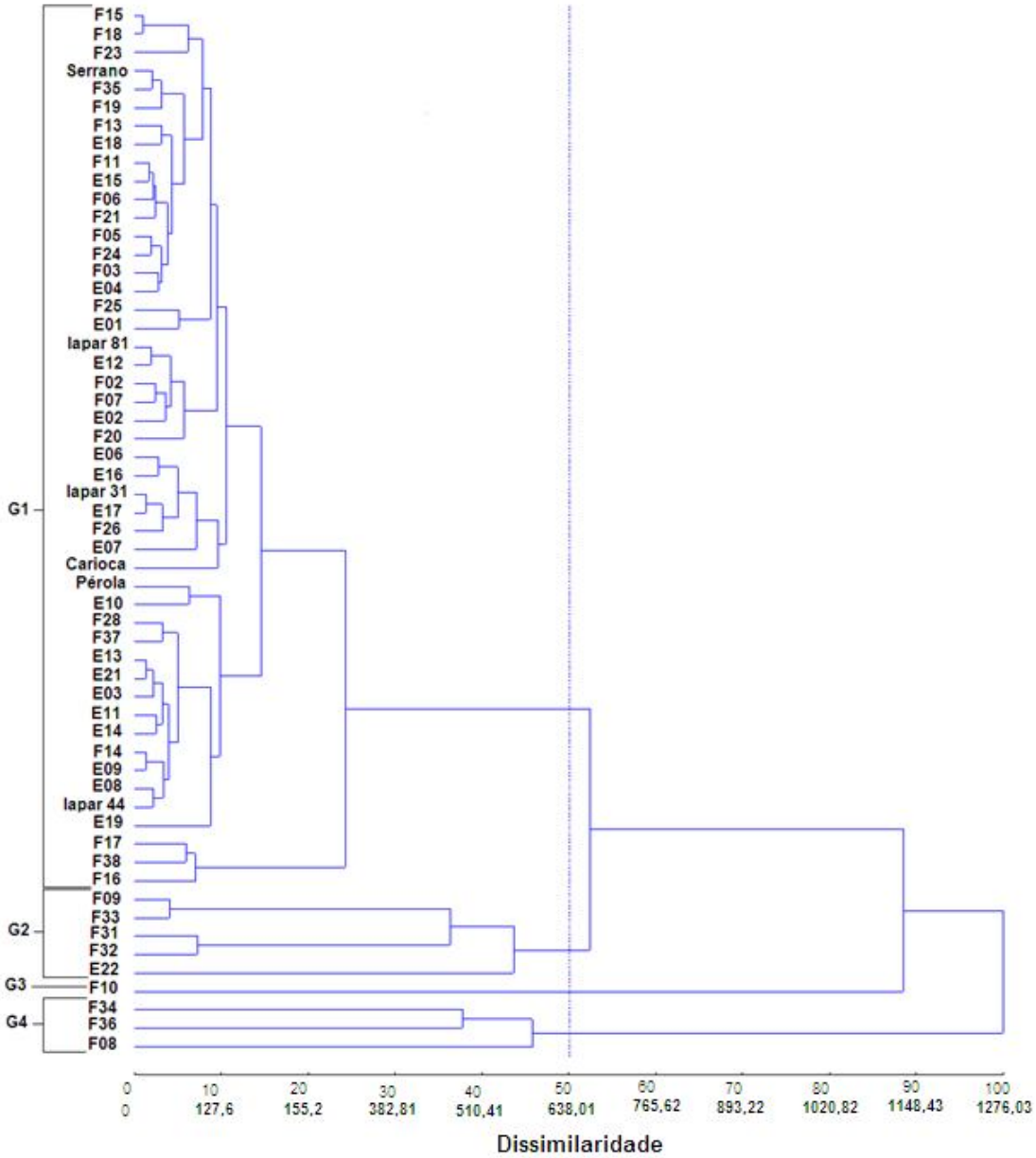

Figura 1 – Dendrograma obtido por meio de dados quantitativos com a distância generalizada de Mahalanobis e pelo método de agrupamento UPGMA, dos 57 genótipos de feijoeiro; linha pontilhada: corte no dendrograma em aproximadamente 50%; G 1 a G 4 são os 4 grupos formados.

No grupo G1, observado na Tabela 10, estão todas as cultivares comerciais (Serrano, Iapar 81, Iapar 31, Carioca, Pérola e Iapar 44), e também a grande maioria das cultivares provenientes da EMBRAPA, somente o genótipo E22 não está presente nesse grupo. O que demonstra uma pequena variabilidade genética entre as cultivares comerciais, os genótipos da EMBRAPA e entre ambos (EMBRAPA e Comerciais). Todos esses genótipos são considerados de origem Mesoamericana.

Tabela 10 – Agrupamento dos 57 genótipos de feijoeiro, a partir do dendrograma obtido por meio de dados quantitativos, com a distância generalizada de Mahalanobis e pelo método de agrupamento UPGMA

Grupo	Genótipos
G1	F15, F18, F23, Serrano, F35, F19, F13, E18, F11, E15, F06, F21, F05, F24, F03, E04, F25, E01, Iapar 81, E12, F02, F07, E02 F20, E06, E16, Iapar 31, E17, F26, E07, Carioca, Pérola, E10, F28, F37, E13, E21, E03, E11, E14, F14, E09, E08, Iapar 44, E19, F17, F38, F16
G2	F09, F33, F31, F32 e E22
G3	F10
G4	F34, F36 e F08

Na Tabela 11 são apresentadas as dissimilaridades entre as cultivares comerciais. Observa-se que a maior dissimilaridade foi entre a cultivar Pérola e a Carioca, com 273,84. A menor distância (24,96) foi observada entre Iapar 81 e Iapar 44. Podemos notar uma dissimilaridade pequena entre as cultivares do Iapar (Iapar 81, Iapar 31 e Iapar 44), que variou de 24,96 a 109,98. Assim, é notória a baixa variabilidade genética entre as cultivares comerciais. O que corrobora com Cabral et al. (2009), que concluíram que as cultivares comerciais Serrano, Iapar 81, Iapar 31, Carioca, Pérola e Iapar 44 têm alto grau de similaridade entre elas.

Tabela 11 – Matriz de dissimilaridade entre as cultivares comerciais, obtida através de dados quantitativos com a distância generalizada de Mahalanobis e pelo método de agrupamento UPGMA

	Pérola	Iapar 81	Carioca	Serrano	Iapar 31	Iapar 44
Pérola	0					
Iapar 81	83,07	0				
Carioca	273,84	133,66	0			
Serrano	121,34	47,19	184,86	0		
Iapar 31	164,35	91,20	93,86	105,04	0	
Iapar 44	96,99	24,96	144,65	30,84	109,98	0

O grupo G2 é formado pelos genótipos considerados de origem Andina (F09, F33, F31) ou próximos (F32 e E22). Estes genótipos receberam essas classificações, mesmo apresentando um peso de sementes inferior aos genótipos F34, F36 e F08, conforme demonstrado na Tabela 10.

O genótipo F10 forma sozinho o grupo G3, pois esse genótipo apresenta as maiores médias de PV e Ciclo e a menor de PR, (Tabela 6). Essas três variáveis, respectivamente, são a segunda, a quinta e a terceira variáveis de maior contribuição relativa para o estudo da diversidade entre os genótipos, o que contribui para a alta divergência desse genótipo, em relação aos outros genótipos em estudo.

O grupo G4 é formado pelos genótipos F34, F36 e F08. O que possivelmente contribuiu para o agrupamento desses genótipos foi o fato de eles apresentarem um P100 elevado (Tabela 7), e também possuírem um CS acima de 1,37 (Tabela 8). As variáveis P100 e CS são a primeira e a terceira variável que mais contribuíram para o estudo da diversidade entre os genótipos. Percebe-se que esses genótipos foram considerados como de origem Andina, demonstrando o agrupamento dos genótipos por centro de origem. Assim, segundo Gepts e Bliss (1986), genótipos de feijoeiro com peso de 100 sementes inferior a 25g pertencem possivelmente ao centro Mesoamericano e com peso superior a 37g, ao Andino.

A distribuição dos genótipos no dendrograma demonstra que os genótipos provenientes da EMBRAPA apresentaram uma dissimilaridade considerada baixa, sendo o genótipo E22 o mais divergente entre eles. Já os genótipos locais (comunidade Fortaleza) apresentaram uma ampla variabilidade genética. O que concorda com os resultados obtidos por Cabral et al. (2009) que trabalhando com dissimilaridade através de caracteres quantitativos, concluíram que os genótipos provenientes da comunidade Fortaleza têm uma ampla base genética.

4.1.2 Análise de diversidade utilizando caracteres qualitativos

A Tabela 12 apresenta as três principais características qualitativas avaliadas no feijoeiro.

Tabela 12 – Hábito de crescimento (HC), porte da planta (PP) e grupo comercial dos 57 genótipos de feijoeiro

(continua)

Genótipos	HC	PP	Grupo
Pérola	Tipo lll	prostrado	carioca
F02	Tipo II	ereto	mulatinho
F03	Tipo II	ereto	mulatinho
F05	Tipo II	ereto	mulatinho
F06	Tipo II	ereto	preto
F07	Tipo III	semi-ereto	roxo
F08	Tipo III	semi-ereto	jalo
F09	Tipo l	ereto	outros
F10	Tipo III	prostrado	preto
F11	Tipo II	ereto	preto
F12	Tipo III	semi-ereto	preto
F13	Tipo II	ereto	mulatinho
F14	Tipo II	ereto	preto
F15	Tipo II	ereto	rosinha
F16	Tipo II	ereto	carioca
F17	Tipo II	ereto	outros
F18	Tipo II	ereto	rosinha
F19	Tipo II	ereto	mulatinho
F20	Tipo II	ereto	outros
F21	Tipo II	ereto	mulatinho
F23	Tipo II	ereto	preto
F24	Tipo II	ereto	preto
F25	Tipo II	ereto	roxo
F26	Tipo II	ereto	preto
Iapar 81	Tipo II	ereto	carioca
F28	Tipo II	ereto	mulatinho
Carioca	Tipo III	prostrado	carioca
Serrano	Tipo II	ereto	preto
F31	Tipo l	ereto	jalo
F32	Tipo l	ereto	preto
F33	Tipo l	ereto	roxo
F34	Tipo l	ereto	jalo
F35	Tipo II	ereto	preto

Tabela 12 – Hábito de crescimento (HC), porte da planta (PP) e grupo comercial dos 57 genótipos de feijoeiro

(conclusão)

Genótipos	HC	PP	Grupo
F36	Tipo II	ereto	outros
F37	Tipo II	ereto	preto
F38	Tipo II	ereto	preto
E01	Tipo II	ereto	preto
E02	Tipo III	Prostrado	carioca
E03	Tipo II	ereto	preto
E04	Tipo II	ereto	preto
Iapar 31	Tipo II	ereto	outros
E06	Tipo II	ereto	preto
E07	Tipo II	ereto	preto
E08	Tipo II	ereto	preto
E09	Tipo II	ereto	preto
E10	Tipo II	ereto	preto
E11	Tipo II	ereto	preto
E12	Tipo II	ereto	carioca
E13	Tipo II	ereto	preto
E14	Tipo II	ereto	preto
E15	Tipo II	ereto	preto
E16	Tipo II	ereto	preto
E17	Tipo II	ereto	preto
E18	Tipo II	ereto	preto
E19	Tipo III	prostrado	carioca
Iapar 44	Tipo II	ereto	preto
E21	Tipo II	ereto	preto
E22	Tipo I	ereto	outros

A maioria dos genótipos estudados é de hábito de crescimento Tipo II (75,43%), de porte ereto (85,96%) e do grupo preto (50,87%). O desenvolvimento de cultivares de hábito de crescimento de tipo I ou tipo II ereto e precoces tem despertado o interesse da pesquisa (QUEIROGA et al., 2003), principalmente para atender produtores que utilizam alta tecnologia, como a colheita mecanizada. Para os que utilizam pouco ou nenhuma tecnologia, cultivares de tipo II semiereto ou tipo III prostrados e de ciclo médio a tardio são as cultivares mais recomendadas, devido à maior necessidade de mão de obra, de terem maturação desuniforme, possibilitando várias colheitas por ciclo e maior produtividade, principalmente em relação a cultivares do tipo I.

No Gráfico 4, é demonstrada a análise da distribuição das frequências da dissimilaridade de 1596 combinações aos pares dos 57 genótipos de feijoeiro. A menor dissimilaridade (0,00) foi observada entre a cultivar Serrano e o genótipo E11. E a maior dissimilaridade (0,78) foi encontrada entre a cultivar Carioca e o genótipo F36, com média geral de 0,34. Essa distribuição da frequência de dissimilaridade foi heterogênea, demonstrando variabilidade entre os genótipos. Observa-se uma concentração da frequência de 0,3 a 0,49 com 42,41% da dissimilaridade observada.

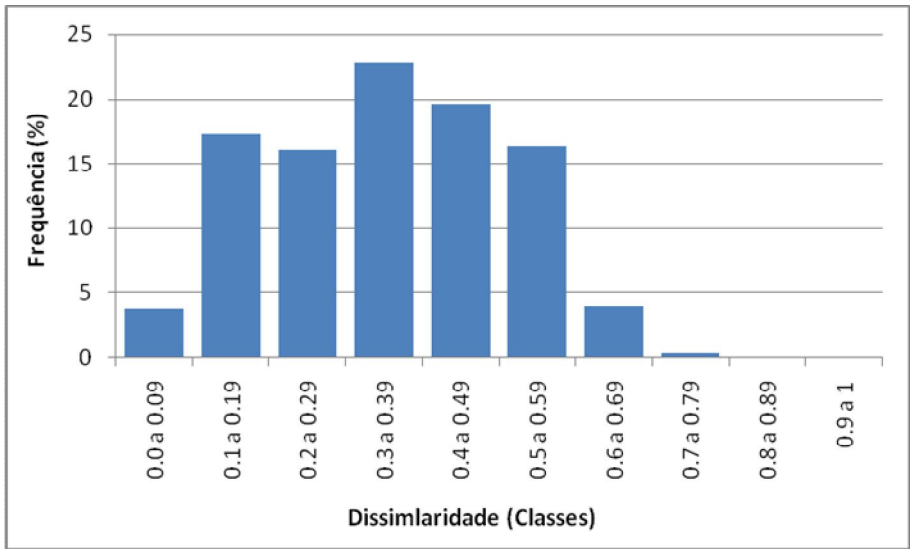

Gráfico 4 – Distribuição de frequência da dissimilaridade a partir de caracteres qualitativos entre os 57 genótipos de feijoeiro em dez classes**.**

Na Figura 2, apresenta-se o dendrograma obtido por meio dos 26 caracteres qualitativos, pela distância Euclidiana, utilizando o método de agrupamento UPGMA. Nesse sentido, a formação de 13 grupos, a partir do corte no dendrograma, é mostrada na Tabela 13.

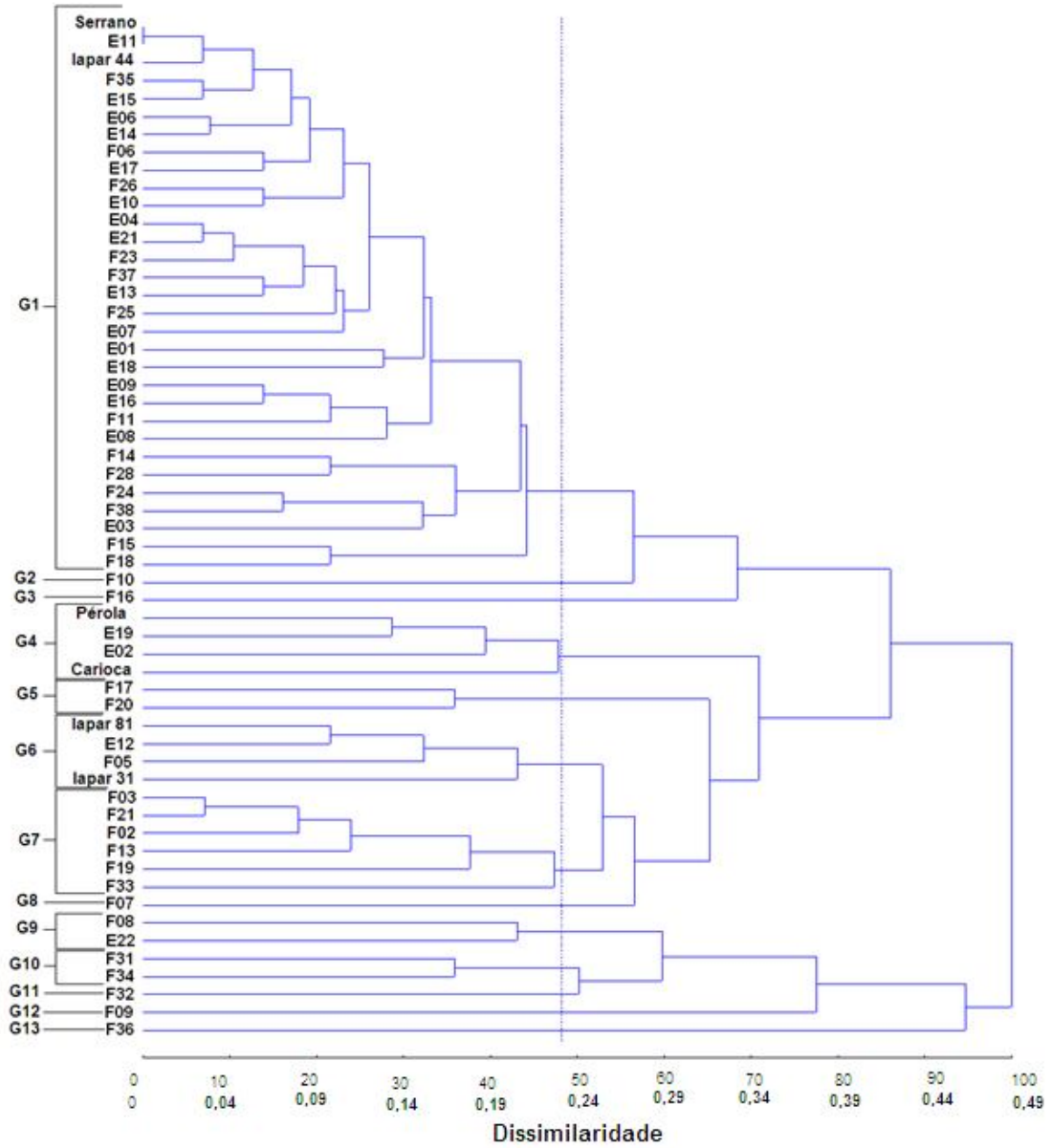

Figura 2 – Dendrograma obtido por meio de caracteres qualitativos com a distância Euclidiana utilizando o método de agrupamento UPGMA dos 57 genótipos de feijoeiro. A linha pontilhada delimita o ponto de corte no dendrograma em aproximadamente 50%; G 1 a G 13 são os 13 grupos formados.

No Grupo G1, observa-se a maioria dos genótipos da EMBRAPA, sendo que somente três genótipos da EMBRAPA não estão presentes nesse grupo (E02, E19 e E22), essa tendência de agrupamento também foi observada na análise das características quantitativas. Ainda no grupo G1, notam-se as cultivares comerciais Serrano e Iapar 44. Essas duas cultivares comerciais demonstraram baixa dissimilaridade entre elas, sendo que a Serrano foi considerada igual ao genótipo

E11. Todos os genótipos desse grupo são de hábito de crescimento tipo II, porte ereto e apenas o F25 não pertence ao grupo comercial preto (Tabela 12), demonstrando uma forte tendência ao agrupamento dos genótipos com esses caracteres qualitativos (HC, PP e Grupo) iguais.

O genótipo F10 forma o Grupo G2, apresentando o hábito crescimento tipo III, porte prostrado e grupo preto. Essa dissimilaridade também foi observada nas análises com os caracteres quantitativos, demonstrando a divergência desse genótipo em relação aos outros em estudo.

O Grupo G3 é formado pelo genótipo F16, que foi classificado como tipo II (HC), ereto (PP) e do grupo comercial carioca. Os genótipos Iapar 81 e E12 também foram classificados com HC tipo II, porte ereto e do grupo carioca. O que diferiu o F16 dos outros genótipos foi a presença de pigmentação tanto nos cotilédones como no hipocótilo, a cor da asa e do estandarte da flor e a cor da vagem na maturação fisiológica, observadas no genótipo F16.

Tabela 13 – Grupos dos 57 genótipos de feijoeiro, a partir do dendrograma obtido através de dados qualitativos com a distância Euclidiana e o método de agrupamento UPGMA

Grupo	Genótipo
G1	Serrano, E11, Iapar 44, F35, E15, E06, E14, F06, E17, F26, E10, E04, E21, F23, F37, E13, F25, E07, E01, E18, E09, E16, F11, E08, F14, F28, F24, F38, E03, F15, F18
G2	F10
G3	F16
G4	Pérola, E19, E02 e Carioca
G5	F17 e F20
G6	Iapar 81, E12, F05 e Iapar 31
G7	F03, F21, F02, F13, F19 e F33
G8	F07
G9	F08 e E22
G10	F31 e F34
G11	F32
G12	F09
G13	F36

O Grupo G4 é composto pelos genótipos Pérola, E19, E02 e o Carioca. Esses genótipos são todos de hábito de crescimento do tipo lll, porte prostrado e do grupo carioca, como mostrado na Tabela 12. Vale ressaltar a baixa dissimilaridade entre o genótipo E19 com a cultivar Pérola (0,14) e também entre o genótipo E02 e a cultivar Carioca (0,17).

A dissimilaridade entre os genótipos F17 e F20, que formam o grupo G5, é considerada baixa, apenas 0,17. Esses genótipos têm os mesmos caracteres HC, PP e grupo (Tabela 12).

O grupo G6 é formado pelas cultivares comerciais Iapar 81 e Iapar 31, juntamente com os genótipos E12 e F05. Os genótipos desse grupo são classificados como tipo ll (HC), ereto (PP). O genótipo E12 e a cultivar Iapar 81 são do grupo comercial carioca e a Iapar 31 é do grupo comercial outros e F05 do grupo mulatinho.

Os genótipos F03, F21, F02, F13, F19 e F33 formam o grupo G7, a maioria desses são do tipo ll (HC), ereto (PP) e considerados do grupo comercial mulatinho, apenas o F33 (tipo l, ereto e grupo roxo) difere dessa classificação (Tabela 12). Por outro lado, dentre todos os genótipos do grupo G7, apenas o F02 não foi considerado com brilho no tegumento da semente.

O grupo G8 é formado pelo genótipo F07 considerado do tipo lll, de porte semiprostrado e de grupo comercial roxo.

Os genótipos dos grupos G9 (F08 e E22), G10 (F31 e F34), G11 (F32), G12 (F09) e G13 (F36) foram todos considerados de origem Andina ou próximos, isto devido ao alto peso de sementes e pelo tamanho de suas sementes, concordando com os resultados observados nas análises dos caracteres quantitativos. Grande parte desses genótipos foi classificada como do tipo l e ereto, sendo apenas o F36 classificado como tipo ll. Os genótipos F09 e E22 (grupo G9) não pertencem a um grupo comercial definido, sendo classificados como outros.

Na Tabela 14, são apresentadas as dissimilaridades entre as cultivares comerciais Pérola, Iapar 81, Carioca, Serrano, Iapar 31 e Iapar 44. A menor dissimilaridade (0,03) foi observada entre as cultivares Iapar 44 e Serrano e a maior ocorreu entre as cultivares Pérola e Iapar 44. Observa-se uma dissimilaridade baixa

entre Iapar 81 e Iapar 31, de apenas 0,21, e também dessas com as cultivares Pérola e Carioca.

Tabela 14 – Matriz de dissimilaridade entre as cultivares comerciais, obtida através de dados qualitativos com a distância Euclidiana e pelo método de agrupamento UPGMA

	Pérola	Iapar 81	Carioca	Serrano	Iapar 31	Iapar 44
Pérola	0					
Iapar 81	0,29	0				
Carioca	0,25	0,29	0			
Serrano	0,50	0,36	0,43	0		
Iapar 31	0,29	0,21	0,32	0,31	0	
Iapar 44	0,54	0,39	0,46	0,03	0,34	0

Em geral, a dissimilaridade entre as cultivares comerciais, demonstradas por meio dos caracteres qualitativos, pode ser considerada de mediana a baixa, sendo a média da cultivar Pérola a mais alta, ou seja, a mais divergente dentre as comerciais.

De acordo com a distribuição dos genótipos no dendrograma, os genótipos da EMBRAPA agruparam-se próximos, demonstrando uma dissimilaridade considerada baixa, já entre os genótipos locais notou-se uma distribuição mais espalhada no dendrograma, demonstrando uma elevada diversidade, o que concorda com as análises através dos caracteres quantitativos.

4.2 Análise por marcadores moleculares

4.2.1 Análise de diversidade utilizando marcadores moleculares SSR

A genotipagem dos 57 genótipos foi realizada com os 16 microssatélites selecionados, os quais 13 foram polimórficos (81,25%) e 3 monomórficos (18,75%). O número de alelos variou de 2 a 4, com uma média de 2,23 por loco, sendo que o maior número de alelos foi observado nos lócus do SSR BM141 com 4 alelos. Números similares de alelos por loco foram encontradas por Campos et al. (2007), Hanai et al. (2007) e Cardoso (2009).

A partir da análise dos alelos polimórficos organizados em uma matriz de dimensão g x L, sendo L as colunas, que representam os valores assumidos pelos marcadores moleculares genotipados e g linhas que representam os genótipos (CRUZ, 2008). Estimou-se a dissimilaridade entre os 57 genótipos, utilizando o complemento do coeficiente de Jaccard. Assim, foram obtidas a matriz de dissimilaridade e a frequência dessa dissimilaridade entre os genótipos (Gráfico 5). O método de agrupamento utilizado foi o UPGMA (Figura 3).

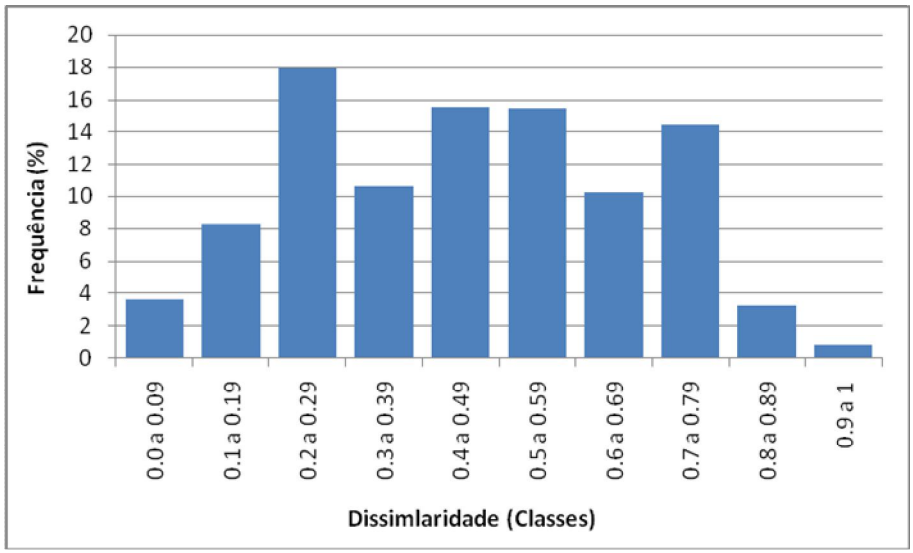

Gráfico 5 – Distribuição de frequência da dissimilaridade, a partir de marcadores SSR entre os 57 genótipos de feijoeiro, nas dez classes

Pela análise da distribuição das frequências da dissimilaridade de 1596 combinações aos pares dos 57 genótipos de feijão (Gráfico 5), observou-se que a distribuição da dissimilaridade não foi uniforme, variando 0,00 a 1,0, com média de 0,45, indicando uma ampla variabilidade genética. Loarce et al. (1996) relataram que os programas de melhoramento estão fundamentados na utilização da variabilidade genética de uma espécie para a criação e seleção de novas cultivares com elevado potencial produtivo. Aproximadamente, 92% da dissimilaridade total observada se concentraram no intervalo de 0,1 a 0,79. A classe que compreende os valores de 0,2 a 0,29 apresentou a maior frequência da dissimilaridade com 17,89% do total. Alzate-Marin et al. (2003) relataram uma concentração de 17 das 21 cultivares elites de feijoeiro entre as distâncias de 0,03 a 0,33 de similaridade.

Entre os genótipos Iapar 81, E03, E04, E09 e E13, constatou-se a menor dissimilaridade (0,0), sendo esses, considerados iguais, o que pode ser verificado pelas análises de agrupamento (Figura 3). Os pares E08 com E16 e Iapar 31 com E06 também obtiveram dissimilaridade zero. Já entre os acessos Serrano e E22, foi observada a maior dissimilaridade (1,0), sendo que esse último genótipo, o E22, obteve a maior média de dissimilaridade (0,77) em relação aos outros genótipos, demonstrando a significativa divergência deste em relação ao restante dos acessos em estudo.

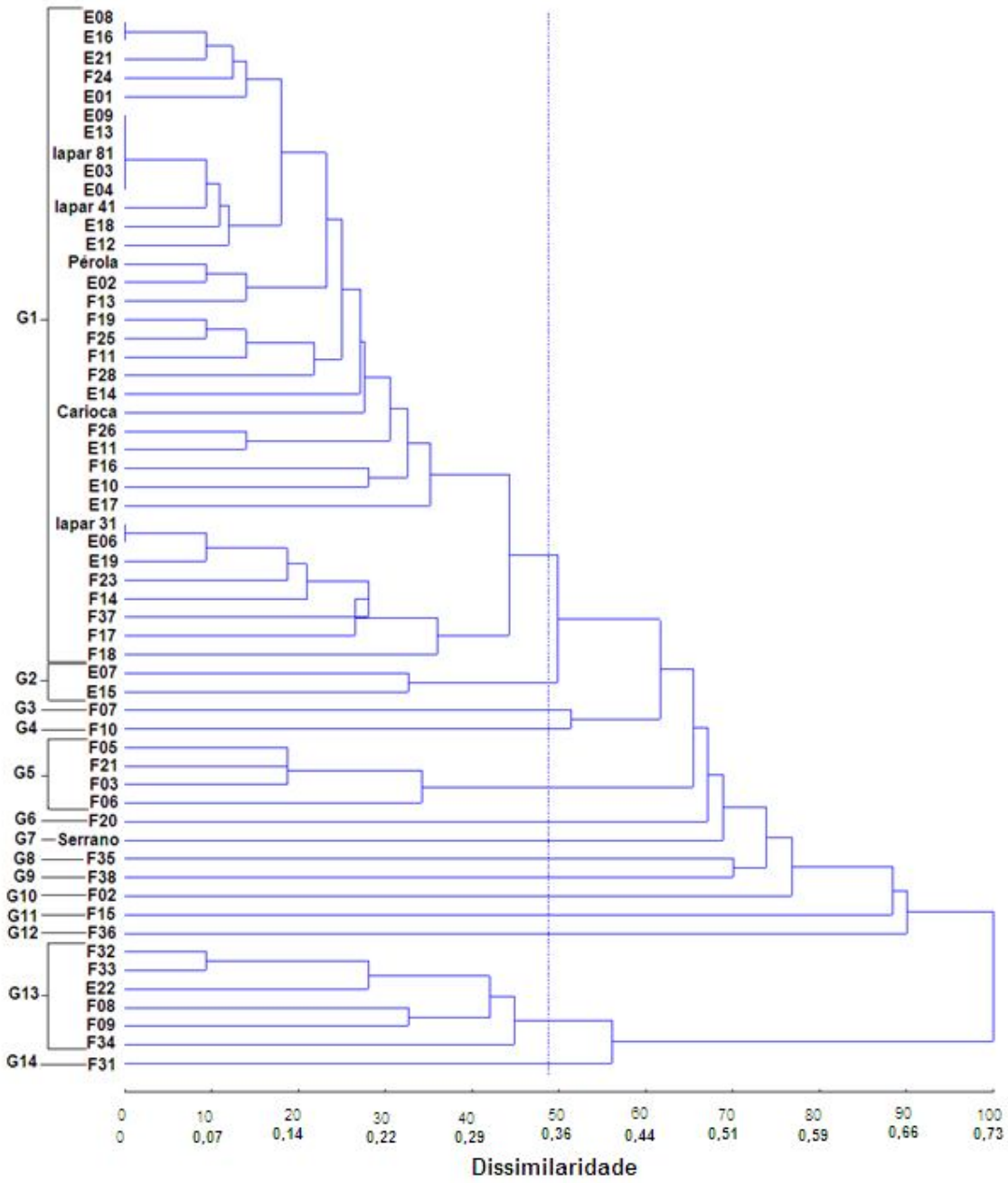

Figura 3 – Dendrograma obtido por meio de marcadores microssatélites com o complemento do coeficiente de similaridade de Jaccard e pelo método de agrupamento UPGMA, dos 57 genótipos de feijoeiro; linha pontilhada: corte no dendrograma em aproximadamente 50%; G 1 a G 14 são os 14 grupos formados.

Observa-se que a partir do ponto de corte estabelecido no dendrograma, os 57 genótipos foram separados em 14 grupos, demonstrados na Tabela 15.

Tabela 15 – Agrupamento dos 57 genótipos de feijoeiro, a partir do dendrograma obtido por meio de marcadores microssatélites com o complemento do coeficiente de similaridade de Jaccard e pelo método de agrupamento UPGMA

Grupo	Genótipos
G1	E08; E16; E21; F24; E01; E09; E13; Iapar 81; E03; E04; Iapar 44; E18; E12; Pérola; E02; F13; F19; F25; F11; F28; E14; Carioca; F26; E11; F16; E10; E17; Iapar 31; E06; E19; F23; F14; F37; F17 e F18
G2	E07 e E15
G3	F07
G4	F10
G5	F05; F21; F03 e F06
G6	F20
G7	Serrano
G8	F35
G9	F38
G10	F02
G11	F15
G12	F36
G13	F32; F33; E22; F08; F09 e F34
G14	F31

Na Tabela 15, percebe-se que dos 22 genótipos fornecidos pela Embrapa, 19 estão presentes no grupo G1, o que representa 86,4%, demonstrando assim, uma variabilidade estreita entre eles. Apenas os genótipos E17, E15 e E22 não estão no G 1, o E17 e o E15 formam o G 2 e o E22 está no G 13. Ainda no grupo G1, agruparam-se as cultivares Pérola, Iapar 31, Iapar 44, Iapar 81 e Carioca, demonstrando uma baixa variabilidade genética entre as cultivares comerciais, o que pode ser observado na Tabela 16.

Tabela 16 – Matriz de dissimilaridade entre as cultivares comerciais, obtida pelo complemento do coeficiente similaridade de Jaccard através dos marcadores SSR

	Pérola	Iapar 81	Carioca	Serrano	Iapar 31	Iapar 44
Pérola	1					
Iapar 81	0,14	1				
Carioca	0,21	0,14	1			
Serrano	0,55	0,48	0,55	1		
Iapar 31	0,28	0,14	0,28	0,34	1	
Iapar 44	0,21	0,07	0,21	0,55	0,21	1

Na Tabela 16, nota-se que a dissimilaridade entre as cultivares comerciais variou de 0,07 a 0,55. A menor dissimilaridade foi observada entre Iapar 81 e Iapar 44 (0,07) e a maior entre Serrano e outras três, Pérola, Carioca e Iapar 44. Entre as cultivares do Iapar, observa-se alto grau de similaridade. A cultivar Serrano apresentou a maior dissimilaridade em relação às outras cultivares comerciais.

Carvalho et al. (2008) por meio de análises com marcadores RAPD, relataram a baixa dissimilaridade entre cultivares comerciais de feijoeiro. Emygdio et al. (2003) trabalhando com diversidade genética de cultivares de feijoeiro no Rio Grande do Sul, por meio de marcadores RAPD, concluíram que os genótipos comerciais apresentam alto grau de similaridade entre si.

Ainda no grupo G 1, observou-se uma tendência de agrupamento por cores da semente do tipo carioca, sendo que todos os genótipos considerados desse tipo (Pérola, F16, Iapar 81, Carioca, E02, E12 e E19) estão presentes nesse grupo.

O agrupamento dos genótipos F32; F33; E22; F08; F09 e F34 no grupo G13, e a proximidade desse com o grupo G14 (genótipo F31), mostrou que as características do centro de origem Andino, ao qual esses genótipos pertencem, foram bem evidentes. Já os genótipos dos grupos G1, G2, G3, G4, G5, G6, G7, G8, G9, G10 e G11, são todos considerados de origem Mesoamericana. Demonstrando assim, a capacidade dos marcadores moleculares SSR em separar os dois centros de origem.

Os cultivares de feijoeiro são de múltipla domesticação no Continente Americano (VAN SCHOONHOVEN e VOYSEST, 1991). Diferenças morfológicas, bioquímicas e moleculares evidenciam bem os dois distintos centros de origem do

feijoeiro, Andinos (sementes grandes e pesadas, com predominância de faseolina tipo “T”) e Mesoamericanos (sementes pequenas, leves e com predominância de faseolina tipo “S”) (SINGH et al., 1991). Fato que foi confirmado através de marcadores morfológicos (GEPTS et al., 1986, SINGH et al., 1991; CHACÓN et al., 2005; DE LA CRUZ et al., 2005; PEREIRA et al., 2009), marcadores isoenzimáticos (KOENIG e GEPTS, 1989; SANTALLA et al., 2004; CHACÓN et al., 2005), os tipos de perfis eletroforéticos phaseolina (GEPTS et al., 1986; PEREIRA e SOUZA, 1992; MACIEL et al., 1999; SOLANO 2005; PEREIRA et al., 2009), e marcadores moleculares de RFLP (CHACÓN et al., 2000), AFLP (MACIEL et al., 2003), RAPD (BEEBE et al., 2000, CARVALHO et al., 2008) e ISSR (DE LA CRUZ et al., 2005, BUSO et al., 2008).

Segundo Alzate-Marin et al. (2003), o progresso na criação de novas cultivares de feijoeiro tem sido lento, provavelmente devido a uma limitada variabilidade genética dos genitores, uma vez que foram selecionados a partir do mesmo conjunto de genes, ou seja, genes de origem Mesoamericana. Essa seleção de genótipos ocorreu em virtude da rigorosa preferência do consumidor por tamanho, forma e cor da semente (CONAFE, 2005), o que explica a proximidade no agrupamento das cultivares comerciais. Assim, é importante a introgressão de genótipos de origem Andina em programas de melhoramento do feijoeiro, especialmente para aumentar a diversidade genética entre as cultivares melhoradas e também para a redução da vulnerabilidade de genótipos melhorados (PEREIRA et al., 2009).

A distribuição bem heterogênea dos genótipos provenientes da comunidade Fortaleza no dendrograma (Figura 3) demonstra a alta diversidade em poder dos pequenos agricultores do sul do estado do Espírito Santo. Souza et al. (2009) trabalhando com alguns desses genótipos, através de marcadores RAPD, concluíram que os mesmos apresentaram uma diversidade significativa. Carvalho et al. (2008) relata que a manutenção da diversidade genética em poder dos pequenos agricultores pode ser de grande valor pela probabilidade de conterem alelos que conferem adaptação local, resistência a doenças e tolerância às principais adversidades edafoclimáticas da região.

4.2.2 Análise de diversidade utilizando marcadores moleculares ISSR

Os marcadores ISSR são dominantes, reprodutíveis, muito polimórficos e não requerem conhecimento prévio da sequência genômica (BUSO et al., 2008), não tem os alelos nulos de SSR (SOUZA et al., 2008b). Os ISSR, foram selecionados conforme o número de polimorfismo apresentado em outros trabalhos (CORRÊA et al., 2008; MUTHUSAMY et al., 2008). Assim foram selecionados onze ISSRs que apresentaram um maior número de bandas polimórficas. Esses marcadores produziram 51 bandas, destas, 39 polimórficas, com média de 3,5 bandas polimórficas por *primer*, correspondendo a 76,4% de polimorfismo. Muthusamy et al. (2008) utilizaram 37 *primers* ISSR e obtiveram 296 bandas polimórficas e 61,79% de polimorfismo. Outros autores obtiveram valores maiores, Souza, et al. (2008a) obtiveram uma média de 10 marcas por *primer* ISSR , correspondendo a 83,82% de polimorfismo. Gomes et al. (2009) trabalhando com diversidade genética em oliveira, obtiveram uma média de 12 bandas polimórficas por *primer* e 79% de polimorfismo, utilizando onze *primers* ISSR. Essa diferença, principalmente na média de bandas polimórficas, pode ser devido ao descarte de bandas de intensidade fraca.

A partir da contagem das bandas polimórficas organizadas em matriz, estimou-se a dissimilaridade entre os 57 genótipos, utilizando o complemento do coeficiente de Jaccard, em que se obteve a matriz de dissimilaridade, a frequência entre os genótipos (Gráfico 6) e o agrupamento pelo método UPGMA (Figura 4).

A distribuição da dissimilaridade foi bastante desuniforme, variando 0,00 a 1,0, com média de 0,44, indicando ampla variabilidade genética. Houve uma concentração no intervalo de 0,2 a 0,69, correspondendo a mais de 86% da dissimilaridade total observada. Portanto, a classe que compreende de 0,5 a 0,59 apresentou a maior frequência da dissimilaridade, com 23,37% do total.

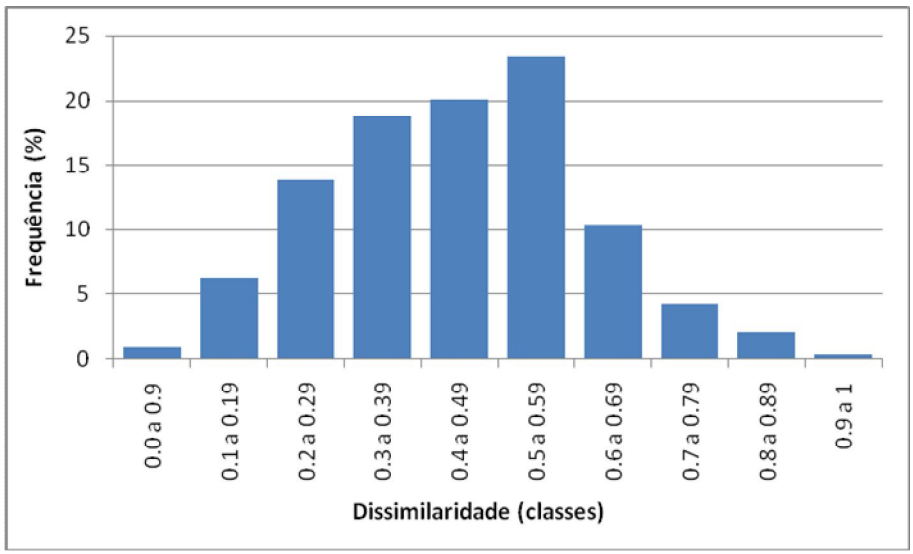

Gráfico 6 – Distribuição de frequência da dissimilaridade, a partir de marcadores ISSR entre os 57 genótipos de feijoeiro, nas dez classes

Os genótipos E22 e F07 juntamente com F16 e E19 apresentaram a menor dissimilaridade entre os pares 0,0. A maior distância genética (1,0) foi encontrada entre F16 e outros três, Pérola, F08 e F13. A cultivar Pérola obteve a maior média de dissimilaridade com 0,76, demonstrando que essa cultivar tem uma alta divergência para os outros genótipos em estudo.

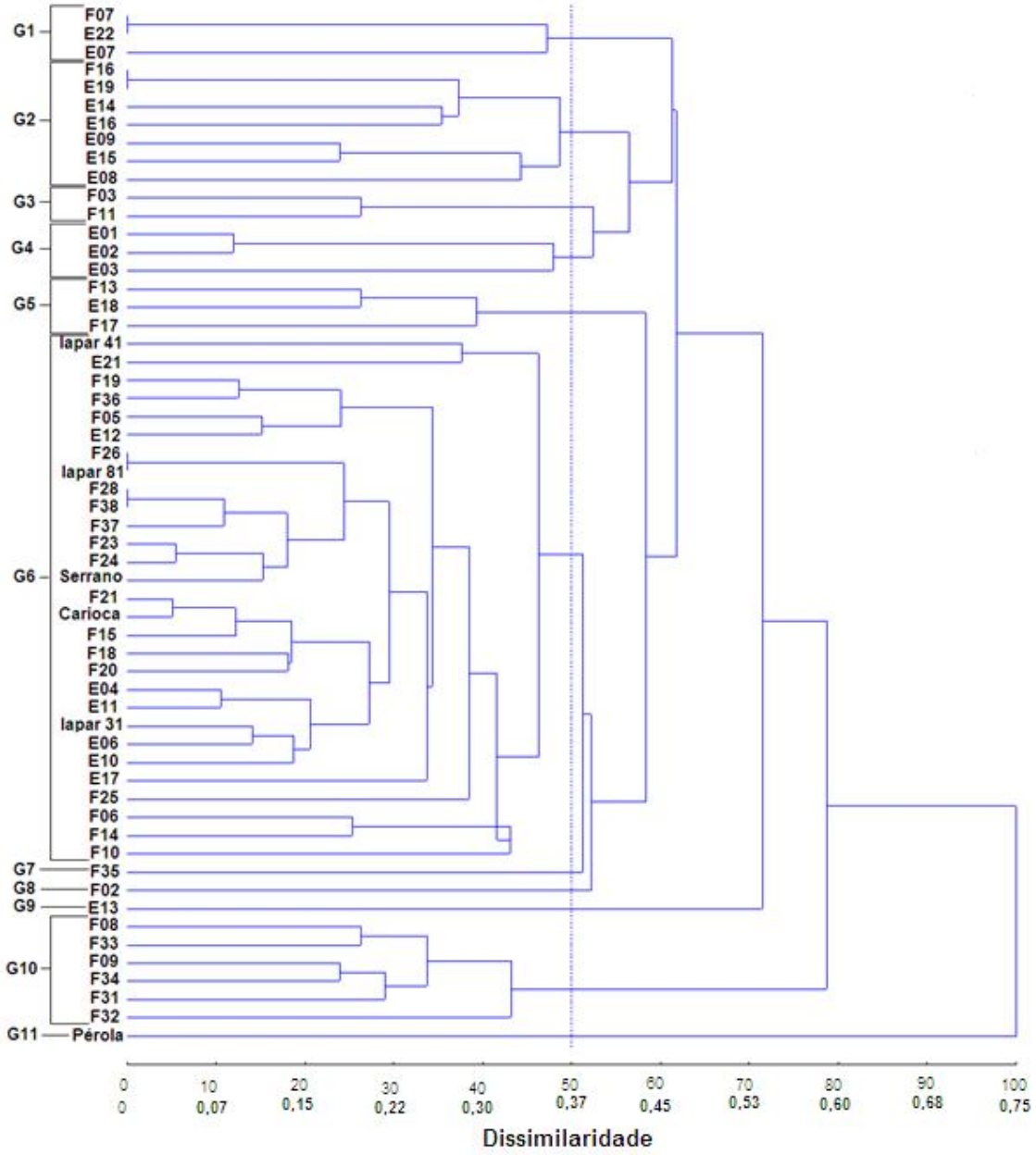

Figura 4 – Dendrograma obtido por meio de marcadores ISSRs, com o complemento do coeficiente de similaridade de Jaccard e pelo método de agrupamento UPGMA, dos 57 genótipos de feijoeiro; linha pontilhada: corte no dendrograma em aproximadamente 50%; G 1 a G 11 são os 11 grupos formados.

Analisando a Figura 4, observa-se que a partir do ponto de corte de aproximadamente 50% no dendrograma, separaram-se os 57 genótipos em 11 grupos, demonstrados na Tabela 17.

Tabela 17 – Agrupamento dos 57 genótipos de feijoeiro, a partir do dendrograma obtido por meio de marcadores ISSR, com o complemento do coeficiente de similaridade de Jaccard e pelo método de agrupamento UPGMA

Grupo	Genótipos
G1	F07, E22 e E07
G2	F16, E19, E14, E16, E09, E15 e E08
G3	F03 e F11
G4	E01, E02 e E03
G5	F13, E18 e F17
G6	Iapar 44, E21, F19, F36, F05, E12, F26, Iapar 81, F28, F38, F37, F23, F24, Serrano, F21, Carioca, F15, F18, F20, E04, E11, Iapar 31, E07, E10, E17, F25, F06, F24 e F10
G7	F35
G8	F02
G9	E13
G10	F08, F33, F09, F34, F31 e F32
G11	Pérola

Comparando os dendrogramas obtidos pelos dois marcadores SSR e ISSR (Figura 3 e 4), observa-se que os padrões de agrupamento foram bastante diferentes. No dendrograma obtido por meio de SSR (Figura 3), nota-se a formação de 14 grupos (Tabela 15), já no obtido por ISSR ocorreu a formação de 11 grupos (Tabela 17). Souza et al. (2008b) estudando a diversidade genética entre linhagens hibridas de milho através de marcadores RAPD e SSR, observaram diferenças entre os dendrogramas obtidos através desses marcadores.

No grupo 1 (F07, E22 e E07), verificou-se a presença do E22, que é um genótipo considerado de origem Andina, agrupando-se com dois genótipos considerados de origem Mesoamericana (F07 e E07), demonstrado na Tabela 17. O que também ocorreu com o genótipo F36, que não se agrupou com os outros genótipos Andinos. Buso et al. (2008) trabalhando com dissimilaridade de feijoeiros através de nove *primers* de ISSR, relataram que os marcadores ISSR não foram capazes de agrupar os genótipos de acordo com os centros de origem.

Outra possibilidade é o fato dos genótipos (E22 e F36) apresentarem baixa porcentagem de genes andinos, apesar do peso e tamanho das suas sementes (ALZATE-MARIN et al., 2003). Nas análises com marcadores SSR, o genótipo F36 também não se agrupou com os genótipos considerados de origem Andina.

No grupo 6, observa-se as cultivares comerciais (Iapar 41, Iapar 81, Serrano, Carioca, Iapar 31), sendo que apenas a cultivar Pérola não está nesse grupo. Os resultados são similares aos obtidos com as análises de agrupamento através dos SSR (Figura 3). Reforçando assim, que a variabilidade genética entre os cultivares comerciais é estreita, o que pode ser observada na Tabela 18.

Tabela 18 – Matriz de dissimilaridade entre as cultivares comerciais, obtida pelo complemento do coeficiente similaridade de Jaccard através dos marcadores ISSR

	Pérola	Iapar 81	Carioca	Serrano	Iapar 31	Iapar 44
Pérola	1					
Iapar 81	0,72	1				
Carioca	0,72	0,19	1			
Serrano	0,76	0,29	0,19	1		
Iapar 31	0,72	0,24	0,21	0,18	1	
Iapar 44	0,74	0,29	0,31	0,54	0,35	1

Observa-se na Tabela 18, que a dissimilaridade variou de 0,18 a 0,76, sendo a menor observada entre Iapar 31 e Serrano. A cultivar Pérola foi a mais divergente em relação às outras cultivares comerciais. Entre as cultivares Iapar 81, Carioca, Serrano e Iapar 31, observou-se similaridade bem acentuada.

Não houve uma tendência de agrupamento entre os genótipos com a mesma cor do tegumento da semente. O que discorda com os resultados de González et al. (2006) que trabalharam com 329 genótipos de feijoeiro divididos em quatro variedades (Bege, Negro Brilhante, Negro Opaco e Roxo) e relataram que os marcadores ISSR foram capazes de separar os quatro grupos.

Para analisar a consistência do agrupamento, calculou-se o coeficiente de correlação cofenética (CCC), que é estabelecido entre a matriz de dissimilaridade do complemento do coeficiente de similaridade de Jaccard, através dos marcadores ISSR e a matriz de distância cofenética (C). A correlação entre essas duas matrizes foi de elevada magnitude (CCC = 0,8331) e significativa ($P \leq 0,01$), evidenciando assim, uma boa consistência do agrupamento.

As análises obtidas pelos dois marcadores moleculares (SSR e ISSR) foram capazes de discriminar a diversidade genética entre os 57 genótipos de feijoeiro em

estudo. Porém, as análises pelos marcadores SSR resultou em uma separação mais eficiente dos genótipos no agrupamento, indicando assim, maior eficiência dos marcadores SSR. O que pode ser comprovado pelo coeficiente de correlação cofenética, que foram de 0,923 e 0,8331 para SSR e ISSR, respectivamente. A distorção encontrada para o agrupamento dos SSRs foi de 2,9%, enquanto para o ISSRs foi de 3,85% e o estresse de 17,04% (SSR) e 19,64% (ISSR). Bolibok et al. (2005), comparando a eficiência de ISSR e SSR na estimativa da variabilidade genética de centeio, verificaram que SSR tem maior eficiência do que ISSR.

Por outro lado, os marcadores ISSR também se apresentaram capazes de discriminar a divergência entre os genótipos. Esses marcadores são bastante reprodutíveis, além de não apresentarem a necessidade de conhecimento prévio do genoma alvo para o seu desenvolvimento e serem mais polimórficos do que os SSR, tornando-se uma ferramenta de grande valia para análise de diversidade genética em acessos de feijoeiro. O que afirma as conclusões de Buso et al.(2008). Leal et al. (2010), que comparando a eficiência de SSR e RAPD na estimação da diversidade em milho pipoca, observaram que ambos foram eficientes, e que marcadores RAPDs têm maior polimorfismo do que os SSRs. Behera et al. (2007) relataram maior poder discriminatório dos marcadores ISSR em relação aos RAPD, quando comparados na estimação da diversidade de abóboras.

A correlação entre as distâncias genéticas obtidas por SSR e ISSR, foi de 0,2259, sendo esta, relativamente baixa, apesar de ter sido significativa por ambos os testes (“t” e Mantel), a 1% de probabilidade. Souza et al. (2008b) relataram que o caráter dominante/codominante dos marcadores pode contribuir para limitar a correlação entre as distâncias genéticas. Segundo Bolibok et al. (2005), a falta de correlação entre matrizes de similaridade obtida com diferentes marcadores, sugere que estes devem ser usados simultaneamente para explorar as fontes de polimorfismos possíveis.

4.2.3 Análise da diversidade por meio da combinação das bandas polimórficas dos marcadores ISSR e SSR

Juntando as bandas polimórficas dos dois marcadores SSR e ISSR, obteve-se 66 bandas polimórficas, 39 a partir dos ISSR e 27 a partir dos SSR. As informações dos polimorfismos foram organizadas em uma matriz. Para estimar a dissimilaridade entre os 57 genótipos, utilizou-se o complemento do coeficiente de Jaccard, em que se obteve a matriz de dissimilaridade, a frequência desta entre os genótipos (Gráfico 7) e o agrupamento pelo método UPGMA (Figura 5).

Como os marcadores SSR são de caráter codominante e a maioria dos genótipos em estudo apresentaram-se em homozigose, a transformação dos dados para dados binários (presença e ausência de banda) não representou grandes perdas de informação, já que foi observada uma quantidade mínima de locos heterozigotos nas análises de microssatélites.

A análise da distribuição das frequências da dissimilaridade de 1596 combinações aos pares dos 57 genótipos de feijoeiro obtida através de SSR, ISSR e da combinação (SSR e ISSR) é demonstrada no Gráfico 7. A distribuição da dissimilaridade dos marcadores combinados também não foi uniforme, variando de 0,05 até 0,84. Entre os genótipos F28 e F38 foi observado a menor dissimilaridade (0,05), e a maior (0,84), observada entre o genótipo E22 e o Pérola, a média geral foi de de 0,44. Ainda no Gráfico 7, nota-se frequência maior da dissimilaridade em 0,4 para 0,5, representanto juntas quase 50% da variação total.

Bertini et al. (2006) analisando a distribuição da frequência da dissimilaridade entre cultivares de algodão observou concentração de valores nas classes de 0,3-0,4 para 0,4-0,5, com valor de zero indicando similaridade e valores entre 0,7 e 0,8, divergência.

Analisando o Gráfico 7, percebe-se que a frequência da dissimilaridade da combinação dos marcadores segue tendência de média entre as outras duas linhas (SSR e ISSR). Esses resultados foram esperados, já que a análise dos dados foi realizada com os dois marcadores em conjunto. Vale lembrar que o número de bandas polimórficas derivadas do ISSR foi superior a do SSR.

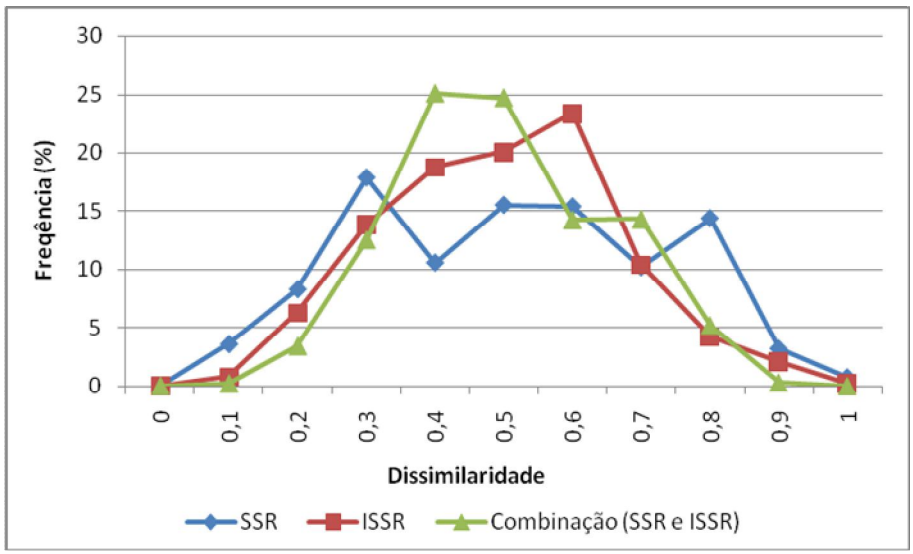

Gráfico 7 – Distribuição de frequência da dissimilaridade, a partir de marcadores SSR, ISSR e da combinação de SSR e ISSR entre os 57 genótipos de feijoeiro

Observa-se concentração da dissimilaridade no meio do gráfico, com reduções nos extremos. Não foram observados genótipos iguais geneticamente, isso demonstra melhor análise da combinação em relação aos marcadores separados, por ter discriminado diferença entre genótipos que nas análises separadas, classificaram esses genótipos como iguais geneticamente. E também, por não encontrar genótipos completamente dissimilares.

Na Figura 5, apresenta-se o agrupamento dos 57 genótipos de feijoeiro a partir das 66 bandas polimórficas obtidas pela combinação dos dois marcadores moleculares ISSR e SSR. Foram utilizados o complemento do coeficiente de Jaccard e o método de agrupamento UPGMA.

O uso combinado de diferentes marcadores pode fornecer informações mais confiáveis sobre a diversidade genética, quando comparado ao uso de apenas um marcador (LEAL et al., 2010). A expectativa é que alguns erros ou problemas apresentados por um marcador poderiam ser minimizados com outros marcadores (SAKER et al., 2005; SOUZA et al., 2008b).

Analisando a Figura 5, observa-se que a partir do corte de aproximadamente 50% no dendrograma, separaram-se os 57 genótipos em 14 grupos, demonstrados na Tabela 19.

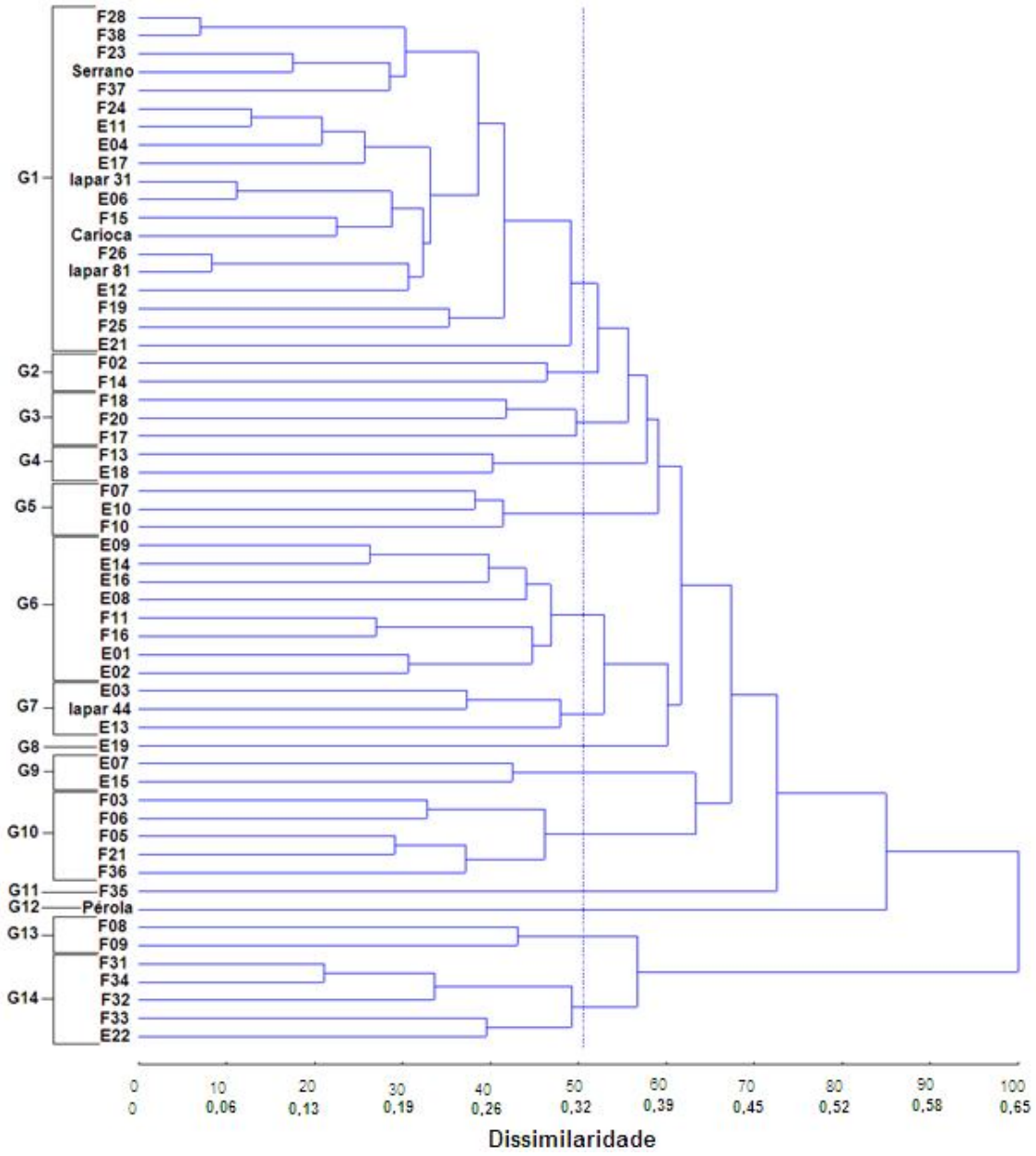

Figura 5 – Dendrograma obtido por meio da combinação entre os marcadores SSR e ISSR com o complemento do coeficiente de similaridade de Jaccard e pelo método de agrupamento UPGMA, dos 57 genótipos de feijoeiro; linha pontilhada: corte no dendrograma em aproximadamente 50%; G 1 a G 14 são os 14 grupos formados.

Laborda et al. (2005) salientaram que o multialelismo dos marcadores microssatélites revelou a diversidade genética de forma ampla, porque não só mostrou a presença ou a ausência de determinada variável de alelos, mas também as diferentes formas alélicas de um determinado loco. Esses mesmos autores

relataram ainda que os microssatélites evidenciam as diferenças genéticas entre dois genótipos em estudo, mas não as suas semelhanças, como observaram com o RAPD.

Assim, espera-se que a combinação de marcadores moleculares, principalmente a combinação entre dominantes e codominantes, na análise de diversidade genética, forneça resultados mais precisos do que as análises individuais de cada marcador.

Tabela 19 – Agrupamento dos 57 genótipos de feijoeiro, a partir do dendrograma obtido por meio da combinação dos marcadores SSR e ISSR com o complemento do coeficiente de similaridade de Jaccard e pelo método de agrupamento UPGMA

Grupo	Genótipo
G1	F28, F38, F23, Serrano, F37, F24, E11, E04, E17, Iapar 31, E06, F15, Carioca, F26, Iapar 81, E12, F19, F25 e E21
G2	F02 e F14
G3	F18, F20 e F17
G4	F13 e E18
G5	F07, E10 e F10
G6	E09, E14, E16, E08, F11, F16, E01 e E02
G7	E03, Iapar 44 e E13
G8	E19
G9	E07 e E15
G10	F03, F06, F05, F21 e F36
G11	F35
G12	Pérola
G13	F08 e F09
G14	F31, F34, F32, F33 e E22

O número de grupos formados (da combinação dos marcadores) foi idêntico à quantidade formada pelos marcadores microssatélites e diferente para os formados por ISSR, forneceram 11 grupos. Entretanto, apesar de o número de grupos terem sido iguais, tanto nas análises com os SSR quanto pelas análises com combinação de marcadores, a disposição dos genótipos nesses grupos foi distinta entre os agrupamentos.

Analisando o dendrograma obtido pela combinação dos marcadores (Figura 5), percebe-se um agrupamento dos genótipos por centro de origem. Os genótipos F08 e F09 (Grupo G 13) e F31, F34, F32 e F22 (Grupo G14) de origem Andina, agruparam-se em grupos próximos e distantes dos genótipos dos outros grupos, que foram considerados de origem Mesoamerica. O genótipo F36 de origem Andina, agrupou-se entre os de origem Mesoamericana, o que também foi observado nas análises pelos outros dois marcadores (SSR e ISSR).

Na análise conjunta dos marcadores, observa-se uma dissimilaridade mediana entre os genótipos provenientes da EMBRAPA, sendo que a grande maioria agrupou-se em grupos cujos genótipos são classificados como mesoamericanos, somente o E22 se agrupou com os andinos. A dissimilaridade média entre os genótipos da EMBRAPA foi de 0,38, sendo que a média de dissimilaridade do E22 em relação aos outros genótipos da EMBRAPA foi de 0,66. Entre os genótipos da comunidade de Fortaleza, pode-se observar uma variabilidade genética maior do que a observada entre os genótipos da EMBRAPA, em que a média entre esses genótipos é de 0,44. O genótipo F08 apresentou a maior média de dissimilaridade (0,62) com relação aos outros genótipos da comunidade. Entre os genótipos da EMBRAPA e da comunidade Fortaleza, observou-se dissimilaridade média de 0,44, e a maior (0,84) foi entre a cultivar Pérola e o genótipo E22. Assim, nota-se dissimilaridade mediana entre os cultivares da EMBRAPA, variabilidade relativamente ampla entre os genótipos da comunidade de Fortaleza e entre os genótipos da EMBRAPA e Fortaleza, notou-se também uma alta divergência genética.

Pereira et al. (2009) relataram que a preservação e o estudo da variabilidade genética é um desafio para o futuro, assim, as variedades representam fonte de variabilidade que pode ser útil na ciência, cultura e programas de melhoramento genético para aumentar a produtividade, a qualidade das sementes, diminuir custos, entre outras. Além disso, esses genótipos podem contribuir com características importantes como resistência a estresses bióticos e abióticos, e a doenças, qualidade e tecnologia de sementes, buscando reduzir a vulnerabilidade de genótipos melhorados (GEPTS et al., 1986).

No grupo G1 da Tabela 19, observou-se a presença de quatro cultivares (Serrano, Iapar 31, Carioca e Iapar 81) das seis comerciais. Demonstrando a baixa variabilidade genética entre esses genótipos. Comparando com os dendrogramas

obtidos pelos marcadores SSR (Figura 3) e pelo ISSR (Figura 4), notam-se diferenças, principalmente com a cultivar Iapar 44, que nos outros dois dendrogramas (SSR e ISSR) agrupou-se com as outras cultivares comerciais. No agrupamento obtido através da combinação dos dois marcadores (Figura 5), percebe-se que a cultivar Pérola seguiu a tendência das análises ISSRs e sozinha forma o grupo G12, sendo essa tendência também observada com a cultivar Serrano, que agrupou no grupo G1, onde estão a maioria das cultivares comerciais, o que também pode ser observado no agrupamento obtido por marcadores ISSR (Figura 4).

Na Tabela 20, é demonstrada a dissimilaridade entre as seis cultivares comerciais. Percebe-se que entre as cultivares do Iapar (Iapar 81, Iapar 31 e Iapar 44) há uma dissimilaridade muito baixa, que varia de 0,20 (entre Iapar 81 e Iapar 44) a 0,3 (entre Iapar 44 e Iapar 31). A dissimilaridade também é baixa entre as cultivares (Iapar 81, Iapar 31 e Iapar 44) com a Carioca e a Serrano, o que demonstra baixa diversidade genética entre esses genótipos. Essa observação também pode ser feita nos outros dois agrupamentos, Figuras 3 e 4.

Tabela 20 – Matriz de dissimilaridade entre as cultivares comerciais, obtida pelo complemento do coeficiente similaridade de Jaccard por meio da combinação dos marcadores SSR e ISSR

	Pérola	Iapar 81	Carioca	Serrano	Iapar 31	Iapar 44
Pérola	1					
Iapar 81	0,48	1				
Carioca	0,50	0,18	1			
Serrano	0,63	0,31	0,28	1		
Iapar 31	0,53	0,21	0,23	0,18	1	
Iapar 44	0,52	0,2	0,27	0,44	0,3	1

A cultivar Pérola foi a que se mostrou mais distante em relação às outras cultivares comerciais. Contrastando com os resultados obtidos por SSR e concordando com os resultados obtidos por ISSR, já demonstrados acima.

Entre as seis cultivares comerciais, não foi evidenciado uma tendência ao agrupamento pela cor do tegumento da semente, observado nos resultados obtidos pelos marcadores SSR.

4.3 Análises multivariadas conjuntas

Observaram-se diferentes agrupamentos formados pelas análises dos diferentes caracteres, morfoagronômicos e moleculares. No agrupamento através dos marcadores SSR, foram observados 14 grupos, a dissimilaridade entre os genótipos Iapar 81, E03, E04, E09 e E13, como entre E08 e E16, e entre Iapar 31 e E16, foi zero, ou seja, considerados iguais. A maior dissimilaridade (1,0), observada foi entre os acessos Serrano e E22, sendo que este último genótipo, obteve a maior média de dissimilaridade (0,77) em relação aos outros genótipos.

No agrupamento obtido através dos marcadores ISSR foram observados 11 grupos, os genótipos E22 e F07 e os F16 e E19 apresentaram a menor dissimilaridade entre os pares 0,0. A maior distância genética (1,0) foi encontrada entre F16 para com outros três, Pérola, F08 e F13. A cultivar Pérola obteve a maior média de dissimilaridade com 0,76.

Para o agrupamento da combinação entre os marcadores, foram observados 14 grupos, sendo a menor dissimilaridade observada (0,05) entre os genótipos F28 e F38 e também entre F26 e Iapar 81, e a maior de 0,84, foi observada entre o genótipo E22 e o Pérola.

Entre os três agrupamentos obtidos pelos marcadores (SSR, ISSR e a combinação de SSR com ISSSR), a melhor distinção dos genótipos foi evidenciada pela combinação dos marcadores, isso devido à junção dos dois caracteres de marcadores dominante (ISSR) e codominante (SSR) e/ou pela maior quantidade de bandas polimórficas, observado também por Souza et al., (2008b).

No dendrograma obtido através de caracteres quantitativos foram observados quatro grupos. Sendo a menor dissimilaridade entre os genótipos F15 e F18 e a maior entre os genótipos F10 e F08.

No agrupamento obtido por meio dos caracteres qualitativos, notou-se a formação de 13 grupos. A menor dissimilaridade (0,00) foi observada entre a cultivar Serrano e o genótipo E11. E a maior dissimilaridade (0,78) foi encontrada entre a cultivar Carioca e o genótipo F36.

É notória a discordância entre os agrupamentos obtidos pelos diferentes caracteres, assim foi avaliada a consistência do agrupamento através do coeficiente de correlação cofenética (CCC) e a correlação entre as matrizes de dissimilaridade obtida pelos diferentes caracteres.

A Tabela 21 demonstra o coeficiente de correlação cofenética (CCC), obtido com 1000 simulações, o teste “t”, que comprova a significância do CCC, a distorção e o estresse do agrupamento. Esses possibilitam analisar a consistência do agrupamento formada pelos diferentes marcadores moleculares (SSR, ISSR e a combinação dos dois), pelos caracteres quantitativos (QUANT) e pelos qualitativos (QUALIT).

É possível perceber que todos os CCC foram significativos pelo teste “t”, a 1% de probabilidade. O maior CCC foi obtido pelo agrupamento proveniente dos marcadores SSR, o que demonstra a maior consistência do agrupamento, indicando maior eficiência no agrupamento por este marcador em relação ao ISSR e a combinação dos dois. Ravi et al. (2003) trabalhando com RAPD e SSR em arroz, relataram maior nível de eficiência dos marcadores microssatélites. Behera et al. (2007) trabalhando com *Momordica charantia,* observaram um maior poder discriminatório dos indivíduos pelos marcadores ISSR em relação aos RAPDs. Bolibok et al. (2005), estudando a eficiência de ISSR e SSR na detecção de polimorfismo genético entre as 30 linhas puras de centeio, concluíram que os SSRs foram mais eficientes na discriminação da similaridade dos genótipos.

Contudo, as percentagens de distorção e estresse entre as matrizes de dissimilaridade e a cofenética demonstraram eficiência para a combinação dos marcadores em relação aos marcadores analisados separadamente. Souza et al. (2008b) avaliando a eficiência de RAPD, SSR e a combinação destes em *Zabrotes subfasciatus,* observaram que a combinação obteve maior poder discriminatório do que os marcadores em separados. Essa eficiência demonstrada pela combinação dos marcadores pode ser devido à junção dos dois caracteres de marcadores dominante (ISSR) e codominante (SSR) e/ou pela maior quantidade de bandas polimórficas.

Tabela 21 - Análise da consistência do agrupamento por meio do coeficiente de correlação cofenética (CCC), do teste “t”, da distorção e do estresse entre as matrizes de dissimilaridade obtida pelos marcadores moleculares (SSR, ISSR e a combinação dos dois), pelos caracteres quantitativos (QUANT) e pelos qualitativos (QUALIT) e a matriz cofenética (C)

	SSR	ISSR	SSR_ISSR	QUANT	QUALIT
CCC	0,923	0,833	0,869	0,912	0,881
Valor t	95,6**	60,1**	70,1**	89,20**	74,74**
Distorção (%)	2,9	3,85	2,53	9,18	3,61
Estresse (%)	17,04	19,64	15,9	30,31	18,99

** Significativo a 1% de probabilidade, pelo teste “t”.

Mesmo que a matriz para análise dos dados quantitativos (Mahalanobis) seja conceitualmente diferente da matriz para a análise dos dados qualitativos (Euclidiana). Verificou-se maior valor de CCC para os caracteres quantitativos, o que demonstra elevado ajuste entre a matriz de distância cofenética (C) e a matriz de distância generalizada de Mahalanobis do que entre C e a matriz da distância Euclidiana. Apesar da distorção e o estresse serem maiores entre a matriz de dissimilaridade, obtida pelos dados quantitativos e a cofenética em relação aos da matriz de dissimilaridade, obtida por meio de dados qualitativos e cofenética, a distância generalizada de Mahalanobis tem maior precisão no agrupamento da distância Euclidiana, por obter maior valor de CCC. O que também foi observado por Santos (2005), Bertan et al. (2006), Cruz e Carneiro (2006).

Considerando que o CCC obtido pela análise de dissimilaridade através dos SSR foi o maior de todos os analisados, e que a matriz para análise dos dados quantitativos (Mahalanobis) é conceitualmente diferente da matriz molecular (coeficiente de Jaccard) (SILVA et al., 2006), é notável a maior eficiência dos marcadores SSR no agrupamento em relação às outras análises.

Na Tabela 22, estão os resultados referentes à correlação entre as matrizes de dissimilaridade obtida por marcadores moleculares SSR, ISSR, a combinação (SSR_ISSR), caracteres quantitativos (QUANT) e qualitativos (QUALIT) e a comparação pelo teste “Z” de Mantel, baseados em 1000 simulações. As correlações variaram de 0,22, entre SSR e ISSR, a 0,77 entre ISSR e a combinação dos marcadores (SSR_ISSR).

Entre os marcadores SSR e ISSR, observa-se uma correlação significativa mas de magnitude baixa (0,22), (Tabela 22), revelando uma diferença na análise entre os marcadores. Assim, Souza et al. (2008b) relataram que a baixa correlação entre os resultados obtidos pelo RAPD e microssatélites poderia ser atribuída à diferença entre os polimorfismos revelados por ambos os marcadores utilizados. RAPD tem caráter dominante, enquanto microssatélites têm caráter codominante. Também poderia ser atribuída às diferenças na eficácia e / ou número de *primers* utilizados.

Cardoso (2009) observou um coeficiente de correlação de -0,08 entre as distâncias genéticas obtidas pelos marcadores SSR e AFLP, e relatou que deve ser considerada a natureza codominante e de alta variação dos marcadores SSR e a forma de amostrar as informações genéticas, que é distinta em relação aos marcadores AFLP. Enquanto os marcadores SSR podem ser gênicos ou genômicos e revelarem a variabilidade intraloco, os marcadores AFLP revelam a variabilidade interloco.

A alta correlação entre a combinação dos marcadores (SSR_ISSR) com SSR (0,68), como também entre a combinação e o ISSR (0,77), era esperada, já que as bandas polimórficas desses dois marcadores foram utilizadas em conjunto nas análises combinadas.

Tabela 22 - Correlação entre as matrizes de dissimilaridade obtidas por marcadores moleculares SSR, ISSR e a combinação (SSR_ISSR), caracteres quantitativos (QUANT) e qualitativos (QUALIT) e a comparação pelo teste “Z” de Mantel

	SSR	ISSR	SSR_ISSR	QUANT	QUALIT
SSR	1				
ISSR	0,22**	1			
SSR_ISSR	0,68**	0,77**	1		
Quant	0,57**	0,31**	0,54**	1	
Qualit	0,36**	0,31**	0,46**	0,47**	1

** Significativo a 1% de probabilidade, pelo teste “Z” de Mantel baseado em 1000 simulações.

A correlação entre os marcadores SSR e os caracteres quantitativos foi de 0,57, o que pode ser considerada moderada / alta. Isso se deve ao fato de os marcadores SSR selecionados estarem ligados a características quantitativas do feijoeiro. Essa alta correlação não foi observada entre os marcadores SSR e os

caracteres qualitativos (0,36) nem entre os ISSR e os caracteres quantitativos (0,31), e qualitativos (0,31).

Observa-se baixa correlação entre as matrizes de dissimilaridade obtidas pelos os caracteres quantitativos e qualitativos com a matriz obtida pelos marcadores ISSR. Segundo Vieira et al. (2007), essas correlações podem ser explicadas pelo fato de grande parte da variação detectada pelos marcadores moleculares ser do tipo não adaptativa e, portanto, não sujeita à seleção (natural e artificial). No entanto, os caracteres indicadores quantitativos aferidos são sujeitos tanto à seleção natural quanto à artificial.

Entre as matrizes de dissimilaridade obtidas pelos caracteres quantitativos e qualitativos, foi verificada uma correlação mediana de 0,47. Vieira et al. (2008) avaliaram a divergência entre acessos de mandioca com caracteres quantitativos, qualitativos e moleculares (RAPD) e observaram uma correlação entre as matrizes de dissimilaridade genética, por meio de marcadores RAPD e por meio de caracteres qualitativos de 0,83, e entre as matrizes por caracteres quantitativos e a marcadores RAPD de 0,50 e entre as matrizes obtidas por caracteres qualitativos e quantitativos de 0,58.

A utilização de maior número de dados moleculares e caracteres qualitativos em relação aos caracteres quantitativos, explicam as correlações obtidas. Assim, fica evidente que as estimativas das distâncias/dissimilaridades genéticas serão tão mais próximas, quanto maior for a associação entre os locos que controlam os caracteres quantitativos e os locos que controlam os marcadores moleculares e caracteres qualitativos avaliados (MÁRIC et al., 2004; ROY et al., 2004).

5. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos permitiram concluir que:

1. Existe ampla diversidade genética entre os genótipos de feijoeiro estudados.
2. Os caracteres qualitativos, quantitativos e moleculares foram eficientes na diferenciação dos genótipos, mesmo com as divergências apresentadas entre eles;
3. A combinação dos marcadores foi mais eficiente na separação dos genótipos em comparação das análises dos marcadores separadamente;
4. A correlação moderada / alta entre os marcadores SSR e os caracteres quantitativos demonstra que a dissimilaridade por meio de marcadores SSR ligados a caracteres de interesse agronômicos pode substituir as análises por caracteres quantitativos;
5. Não há duplicatas genéticas entre os genótipos estudados;
6. Há significativa diversidade genética entre os genótipos provenientes da comunidade Fortaleza (locais), mas entre os genótipos provenientes da EMBRAPA, a diversidade é relativamente estreita. As cultivares comerciais estudadas apresentaram pequena dissimilaridade entre elas;
7. Os genótipos avaliados neste estudo representam um grupo com características importantes para se criar um banco de germoplasma, que poderá dar suporte a programas de melhoramento do feijoeiro;

8. Outras características de interesse econômico, como estresses bióticos e abióticos, propriedades funcionais, dentre outras, precisam ser avaliadas em estudos futuros, para a efetiva utilização desses genótipos em programas de melhoramento.

6. REFERÊNCIAS

AIDAR, H.; KLUTHCOUSKI, J.; STONE, L. F.; **Produção do feijoeiro comum em várzeas tropicais.** Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antonio de Goiás-GO, p. 305, 2002.

ALCÂNTARA NETO, F. **Marcadores microssatélites na identificação de cultivares de soja**. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, p. 46p, 2001.

ALZATE-MARIN, A.L.; COSTA, M.R.; ALOÍSIO SARTORATO,A.; DEL PELOSO, M.J.; BARROS, E.G. DE; MOREIRA, M.A. Genetic Variability and Pedigree Analysis of Brazilian Common Bean Elite Genotypes. **Scientia Agricola**, v.60, n.2, p.283-290, 2003.

ANDERSON, J.W.; SMITH, B.M.; WASHNOCK, C.S. Cardiovascular and renal benefits of dry bean and soybean intake. **American Journal Clinical Nutrition**, v. 70, p. 464-474, 1999.

BARTH, S.; MELCHINGER, A.E.; LÜBBERSTEDT, T.H. Genetic diversity in *Arabidopsis thaliana* L. Heynh. investigated by cleaved amplified polymorphic sequence (CAPS) and inter simple sequence repeat (ISSR) markers. **Molecular Ecology**, v.11, p.495-505, 2002.

BEEBE, S., SKROCH, P. W.,DUQUE,M. C., PEDRAZA, F., NIENHUIS, J.,: Structure of genetic diversity among common bean landraces of Central American origin based on correspondence analysis of RAPD. **Crop Science**, v. 40, p.262–272, 2000.

BEHERA, T.K.; GAIKWARD, A.B.; SINGH, A.K.; STAUB, J.K. Relative efficiency of DNA markers (RAPD, ISSR and AFLP) in detecting genetic diversity of bitter gourd (*Momordica charantia* L.). **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 88, n. 4, p.733-737, 2007.

BENIN, G. et al. Implicações do ambiente sobre o rendimento de grãos em aveia e suas influências sobre estimativas de parâmetros genéticos. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v.9, n.3, p.207-214, 2003.

BERED, F. Variabilidade genética: ponto de partida para o melhoramento de plantas. In: SACCHET, A. M. O. F. **Genética, para que te quero?** Porto Alegre: Ed. UFRGS, p. 99-104, 1999.

BERED, F.; BARBOSA NETO, J. F.; ROCHA, B. M. Genetic variability in common wheat based on morphological traits, coefficients of parentage and RAPD's. **Journal of New Seeds**, Binghamton, v.3, n.2, p. 73-87, 2001.

BERTAN, I.; CARVALHO, F. I. F. de; OLIVEIRA, A. C. de; VIEIRA, E. A.; HARTWIG, I.; SILVA, J. A. G da; SHIMIDT, D. A. M.; VALÉRIO, I. P.; BUSATO, C. C.; GUILHERME RIBEIRO, G. Comparação de métodos de agrupamento na representação da distância morfológica entre genótipos de trigo. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 12, n. 3, p. 279-286, 2006.

BERTINI, C.H.C.M.; SCHUSTER, I.; SEDIYAMA, T.; BARROS, E.G de, MOREIRA, M.A. Characterization and genetic diversity analysis of cotton cultivars using microsatellites. **Genetics and Molecular Biology**, v. 29, n. 2, p 321-329, 2006.

BLAIR, M. W.; IRIARTE, G.; BEEBE, S. QTL analysis of yield traits in an advanced backcross population derived from a cultivatéd Andean · wild common bean (Phaseolus vulgaris L.) cross. **Theor Appl Genet**, v. 112, p. 1149–1163, 2006.

BLAIR, M. W.; PEDRAZA, F.; BUENDIA, H. F.; GAITAN-SOLIS, E.; BEEBE, S. E.; GEPTS, P.; TOHME, J. Development of a genome-wide anchored microsatellite map for common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Theoretical and Applied Genetics,** Berlin, v. 107, p. 1362-1374, 2003.

BOLIBOK, H.; RAKOCZY-TROJANOWSKA, M.; HROMADA, A.; PIETRZYKOWSKI, R. Efficiency of different PCR-based marker systems in assessing genetic diversity among winter rye (*Secale cereale* L.) inbred lines. **Euphytica**, v.146, n.1-2, p. 109-116, 2005.

BONETT, L.P.; GONÇALVES-VIDIGAL, M.C., SCHUELTER, A.R.; VIDIGAL FILHO, P.S.; GONELA, A.; LACANALLO, G.F. Divergência genética em germoplasma de feijoeiro comum coletado no estado do Paraná, Brasil. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 27, n. 4, p. 547-560. 2006.

BORÉM, A.; CAIXETA, E.T. **Marcadores Moleculares**. 2ª Ed, Viçosa, MG, 2009, 532p.

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

BRAMMER, S. P. **Mapeamento de genes de resistência parcial à ferrugem da folha em cultivares brasileiras de trigo (*Triticum aestivum* L. em Thell)**. Tese (Doutorado em Genética e Biologia Molecular) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 2000.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. **Regras para análise de sementes**. Brasília, DF, 1992. p. 194-195.

BROUGHTON, W.J.; HERNÁNDEZ, G.; BLAIR, M.W.; BEEBE, S. Beans (*Phaseolus* spp.) - model food legumes. **Plant Soil**, v. 252, p. 55-128, 2003.

BUSO, G.S.C.; CIAMPI, A.Y.; MELO, L.C.; AMRAL, Z.P.S. **Análise da variabilidade genética de feijoeiro comum com marcadores ISSR**. EMBRAPA -Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília – DF, 2008.

CABRAL, P. D. S.; ALVES, D. S.; da SILVA, J.A.; LOURENCINI, G. M.; NUNES, J. A. ; MATTA, F. P. ; SOARES, T. C. B. . Análise de Divergência Genética em Acessos de *Phaseolus vulgaris* L.. In: **V Congresso Brasileiro de Melhoramento de Plantas**, Guarapari-ES. O melhoramento e os novos cenários da agricultura, 2009.

CAMPOS, T.; BENCHIMOL, L.L.; CARBONELL, S.A.M.; CHIORATTO, A.F.; FORMIGHIERI, E.F.; SOUZA A.P. Microssatélites para estudos genéticos e programas de melhoramento em feijoeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 42, p. 589-592, 2007.

CARDOSO, J.M.K. **Estimativa da diversidade genética entre acessos do tipo Carioca de feijão comum com base em marcadores moleculares**. Dissertação (mestrado). IAC - Campinas, 2009. 72p.

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

CARVALHO, M.F. DE; FARIAS, M.C.F.L.; COIMBRA, J.L.M.; BOGO, A.; GUIDOLIN, A.F. Caracterização da diversidade genética entre acessos crioulos de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) coletados em Santa Catarina por marcadores RAPD. **Ciência Rural**, v.38, n.6, 2008.

CHACÓN,M. I., PICKERSGILL, S. B., DEBOUCK, D. G. Domestication patterns in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) and the origin of the Mesoamerican and Andean cultivated races. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 110, p.432–444, 2005.

CHIORATO, A. F. **Divergência genética em acessos de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) do Banco de Germoplasma do Instituto Agronômico-IAC**. Dissertação (mestrado) - Instituto Agronômico-IAC, Campinas, 2004.

COELHO, C.M.M.; COIMBRA, J.L.M.; SOUZA, C.A. de.; BOGO, A.; GUIDOLIN, A.F.Diversidade genética em acessos de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). **Ciência Rural**, v.37, n.5, p. 1241-1247, 2007.

COIMBRA, J.L.M. CARVALHO, F I.F. Divergência genética em feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) com grão tipo carioca. **Revista Brasileira de Agrociência**, v.4, n. 3, 211-217, 1998.

COIMBRA, J.L.M., GUIDOLIN, A.F., CARVALHO, F.I.F. DE, COIMBRA, S.M.M., MARCHIORO, V.S. Análise de Trilha I: Análise do Rendimento de Grãos e seus Componentes. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 29, n. 2, p. 213-218, 1999.

CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento. 4º Levantamento de grãos 2006/2007. 2007. Disponível em: http://www.conab.gov.br/conabweb.

CONAFE. Resumos do VIII Congresso Nacional de Feijão. Santo Antônio de Goiás / Embrapa Arroz e Feijão, Goiânia, GO. 2005

CORDEIRO, A.; MARCATTO,C. Milho: a volta das variedades crioulas.In: GAIFANI, A.;CORDEIRO, A. (Org). **Cultivando a diversidade**: recursos genéticos e segurança alimentar. Rio de Janeiro: Assessoria e Serviços a Projetos em Agricultura Alternativa, p. 205, 1994.

CORRÊA, L.S.; BARROS, B.A.; MENDONÇA, M.A.C.; SANGLARD, D.A.; MOREIRA, M.A.; BARROS, E.G. Determinação de parâmetros para o uso de marcadores ISSR na análise de feijão-comum cultivado *in vitro.* In: **Resumos do 54º Congresso Brasileiro de Genética**, Salvador, BA, 2008.

Cruz, C. D. **Programa Genes: diversidade genética**. Viçosa: UFV, p. 278, 2008.

CRUZ, C. D.; CARNEIRO, P. C. S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. 2. ed. Viçosa: UFV,v2, p. 585, 2006.

CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J. CARNEIRO, P. C. S. **Modelos biométricos aplicados a melhoramento genético**. Viçosa: UFV, v.1, p. 480, 2004.

CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J. **Modelos biométricos aplicados a melhoramento genético**. Viçosa: UFV, p. 390, 1997.

CRUZ, C.D. **GENES** – versão Windows. 2001. Editora UFV. Viçosa, MG. 642p.

DE LACRUZ, E. P., GEPTS, P., MARÍN, P. C. G., VILLAREAL, D. Z. Spatial distribution of genetic diversity in wild populations of *Phaseolus vulgaris* L. from Guanajuato and Michoacán, México. **Genetic Resources and Crop Evoution**, v. 52, p.589–599, 2005.

DEBOUCK, D. Systematics and morphology. In: SCHOONHOVEN, A. van, VOYSESR, O.(eds.). **Common beans – Research for crop improvement.** Cali, CAB International, CIAT, p.55-118, 1993.

DELGADO-SALINAS A, BIBLER R, LAVIN M. Phylogeny of the genus Phaseolus (Leguminosae): a recent diversification in an ancient landscape. **Syst Bot**, v.31, p. 779–791, 2006.

DIAS, L. A. S. **Divergência genética e fenética multivariada na predição de híbridos e preservação de germoplasma de cacau (*Theobroma cacao* L.).** Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – ESALQ, Piracicaba, 1994.

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

ELIAS, H. T., GONÇALVES-VIDIGAL, M. C., GONELA, A., VOGT, G. A. Variabilidade genética em germoplasma tradicional de feijão-preto em Santa

Catarina. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.42, n.10, p.1443-1449, 2007.

EMYGDIO, B. M., ANTUNES, I. F, NEDEL, J. L; CHOER, E. Diversidade genética em cultivares locais e comerciais de feijão baseada em marcadores RAPD. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 38, n. 10, p. 1165-1171, 2003.

FAO. Agriculture data. Disponível em:< http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx 2009>, acessado em 22 de novembro de 2009.

FAO. Faostat. Roma: FAO, 2005. Disponível em: http://faostat.fao.org. Acesso em: 8 novembro de 2009.

FERREIRA, C.M.; DEL PELOSO, J.M.; FARIA L.C. de. **Feijão na Economia Nacional.** EMBRAPA- Arroz e Feijão (Documento 135)**,** Santo Antônio de Goiás, GO, 2002.

FERREIRA, L.G.; TELES, F.L.; DAVI, G.S.; KOZLOWSKI, A.L.R.; NUNES, R.C.; BUSO, G.S.G.; BRONDANI, R.P.V.; BRONDANI, C.; MELO, L.C.; PELOSO, M.J.; BASSINELLO, P.Z.; SIBOV, S.T.; CARNEIRO, M.S. (2005). Utilização de Marcadores Microssatélites na Construção de Mapa Genético em feijoeiro comum, Visando a Identificação de QTL's Associados ao Teor de Proteínas em Grãos. **CONAFE** , p.579-581 , 2005.

FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética**. 3º ed. Brasília: EMBRAPA, CENARGEN, p. 220, 1998.

FONSECA, J.R.; SILVA, H.T. da. Emprego da Análise Multivariada na Caracterização de Acessos de Feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). **Revista Brasileira de Sementes**, v. 19, n. 2, p.334-340, 1997.

FONT QUER, P. **Diccionario de botânica**. Barcelona: Labor, p.1244, 1979.

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

FREDDI, O.S.; CARVALHO, M.P.; CENTURION, J.F.; BARBOSA, G.F. Variabilidade espacial da produtividade do feijão em um Latossolo Vermelho distroférrico sob preparo convencional e plantio direto. **Acta Scientiarum. Agronomy**, Maringá, v. 27, n. 1, p. 61-67, 2005.

FREYRE R, RIOS R, GUZMAN L, DEBOUCK D, GEPTS P. Ecogeographic distribution of Phaseolus spp. (Fabaceae) in Bolivia. **Econ Bot**, v. 50, p. 195–215, 1996.

FURTADO, M.R., CRUZ, C.D., CARDOSO, A.A., COELHO, A.D.F., PETERNELLI, L.A. Análise de Trilha do Rendimento do Feijoeiro e Seus Componentes Primários em Monocultivo e em Consórcio com a Cultura do Milho. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.32, n.2, p.217-220, 2002.

GAITÁN-SOLÍS, E.; DUQUE M. C.; EDWARDS K. J.; TOHME J. Microsatéllite Repeats in Common Bean (*Phaseolus vulgaris*): Isolation, Characterization, and Cross-Species Amplification in *Phaseolus* ssp. **Crop science**, v. 42, p. 2128-2136, 2002.

GALLO, D.; NAKANO, O.; NETO, S. S.; CARVALHO, R. P. L.; BAPTISTA, G. C. de; FILHO, E. B.; PARRA, J. R. P. et al. **Manual de Entomologia Agrícola.** Piracicaba: Fealq, 920p. 2002.

GEPTS, P., OSBORN, T. C., RASHKA, K., BLISS, F. A. Phaseolin-protein variability in wild forms and landraces of the common beans (*Phaseolus vulgaris*): Evidence for multiple centers of domestication. **Economic Botany**, v.40, p.451–468, 1986.

GEPTS, P.; BLISS, F.A. Phaseolin variability among wild and cultivatéd common beans (Phaseolus vulgaris) from Colombia. **Economic Botany, v.** 40, p. 469–478, 1986.

GOMES, S.; MARTINS-LOPES, P.; LOPES, J.; GUEDES-PINTO, H. Assessing Genetic Diversity in Olea europaea L. Using ISSR and SSR Markers. **Plant Molecular Biology Reporter** , v. 27, p. 365–373, 2009.

GONZÁLEZ, A.; WONG, A.; DELGADO-SALINAS, A.; PAPA, R.; GEPTS, P. Assessment of Inter Simple Sequence Repeat Markers to Differentiate Sympatric Wild and Domesticated Populations of Common Bean. **Crop Science**, v. 45, p. 606-615, 2005.

GUIDOLIN, A. F.; **Regeneração de plantas de *Phaseolus vulgaris* L. a partir de calos e transformação genética via *Agrobacterum***. (Tese de doutorado). UNESP – Piracicaba. 100p. 2003.

GUPTA M.; CHYI, Y.-S.; ROMERO-SEVERSON, J.; OWEN, J.L. Amplification of DNA markers from evolutionarily diverse genomes using single *primers* of simple-sequence repeats. **Theoretical and Applied Genetics**, 89: 998–1006, 1994.

HANAI, L.L.; CAMPOS, T.; CAMARGO, L.E.A., BENCHIMOL, L.L.; SOUZA, A.P.; MELOTTO, M.; CARBONELL, S.A.M.; CHIORATTO, A.F.; CONSOLI, L.; FORMIGHIERI, E.F.; SIQUEIRA, M.V.B.M.; TSAI, T.M.; VIEIRA, M.L.C. Development, characterization and comparative analysis of polymorphism at common bean-SSR loci isolated from genic and genomic sources. **Genome**, v. 50, p. 266-277, 2007.

IBGE. Área plantada, área colhida, quantidade, rendimento médio e valor da produção dos principais produtos das lavouras temporárias. Disponível em: <http: //www.ibge.gov.br.2003>. Acesso em: 25 de novembro de 2009.

JACKSON, A. A.; SOMERS, K. M.; HARVEY, H. H. Similarity coefficients: measures for co-occurrence and association or simply measures of occurrence. **American Naturalist**, Chicago, v. 133, p. 436-453, 1989.

JOHNSON, R.A.; WICHERN, D.W. **Applied multivariaté statistical analysis**. New Jersey-USA; Englewood Cliffs, 642p. 1992.

KHAIRALLAH MM, ADAMS MW, SEARS BB. Mitochondrial DNA polymorphisms of Malawian bean lines: further evidence for two major gene pools. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 80, p. 753–761, 1990.

KOENIG, R., GEPTS, P. Segregation and linkage of genes for seed proteins, isozymes, and morphological traits in common bean (*Phaseolus vulgaris*). **Journal of Heredity**, v.80, p.455–459, 1989.

KOINANGE EMK, GEPTS P. Hybrid weakness in wild Phaseolus vulgaris L. **Journal of Heredity** , v. 83, p.135–139, 1992.

KUREK, A.J.; CARVALHO, F.I.F. de; ASSMANN, I.C.; MARCHIORO, V.S.; CRUZ, P.J. Análise de Trilha como Critério de Seleção Indireta para Rendimento de Grãos em Feijão. **Revista Brasileira de Agrociência**, v.7, n.1, p. 29-32, 2001.

KWAK, M. e GEPTS, P. Structure of genetic diversity in the two major gene pools of common bean (Phaseolus vulgaris L., Fabaceae). **Theoretical and Applied Genetics**, v. 118, p. 979–992, 2009.

LABORDA, P.R.; OLIVEIRA, K.M.; GARCIA, A.A.F.; PATERNIANI, M.E.A.G.Z.; SOUZA, A.P. Tropical maize germplasm: what can we say abouy, its genetic diversity in the light of molecular markers?. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 111, p. 1288–1299, 2005.

LEAL, A.A.; MANGOLIN, C.A.; AMARAL JÚNIOR, A.T. do; GONÇALVES, L.S.A.; SCAPIM, C.A.; MOTT A.S.; ELOI, I.B.O.; CORDOVÉS, V.; SILVA, M.F.P. da. Efficiency of RAPD versus SSR markers for determining genetic diversity among popcorn lines. **Genetics and Molecular Research**, v. 9, n. 1, p. 9-18, 2010.

LIMA, J. S. S.; SILVA, S. A.; OLIVEIRA, R. B. de; CECÍLIO, R. A.; XAVIER, A. C. Variabilidade temporal da precipitação mensal em Alegre – ES. **Revista Ciência Agronômica,** Fortaleza, v. 39, n. 02, p. 327-332, 2008.

LITT, M.; LUTY, J. A. A hypervariable microsatéllite revealed by in vitro amplification of a dinucleotide repeat within the cardiac muscle actin gene. **American Journal Human Genetics**, v. 44; p. 397-401, 1989.

LOARCE, Y.; GALLEGO, 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.

MACIEL, F. L., ECHEVERRIGARAY, S., GERALD, L. T. S.,GRAZZIOTIN, F. G. Genetic relationships and diversity among Brazilian cultivars and landraces of common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) revealed by AFLP markers. **Genetic Resources and Crop Evoution**, v. 50, p. 887–893, 2003.

MACIEL, F. L., GERALD, L. T. S., ECHEVERRIGARAY, S. Variation of phaseolin and other soluble proteins among cultivars and landraces of common beans of south-Brazil. **Journal of Genetics and Breeding**, v. 53, p.149–154, 1999.

MAPA: Ministério da agricultura pecuária e abastecimento, disponível em: <http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>, acessado em: 28 de agosto de 2008.

MÁRIC, S.; BOLARÍC, S.; MARTINCIC, J.; PEJÍC, I.; KOZUMPLINK, V. Genetic diversity of hexaploid wheat cultivars estimated by RAPD markers, morphological traits and coefficients of parentage. **Plant Breeding**, v.123, p.366‑369, 2004.

MINGOTI, S. A. **Análise de dados através de métodos de estatística multivariada**. Belo Horizonte: UFMG, 297p., 2005.

MUTHUSAMY, S. KANAGARAJAN, S. PONNUSAMY, S. Efficiency of RAPD and ISSR markers system in accessing genetic variation of rice bean (*Vigna umbellata*) landraces. **Electronic Journal of Biotechnology**, Valparaíso – Chile, n.3, V.11, 2008.

OLIVEIRA, L.K.; MELO, L.C.; BRONDANI C., PELOSO**,** M.J.D.; BRONDANI, R.P.V.**.** Backcross assisted by microsatéllite markers in common bean. **Genetics and Molecular Research**, v.7, p. 1000-1010, 2008.

OLIVEIRA, M.S.P de. **Caracterização molecular e morfoagronômica de germoplasma de açaizeiro**. Tese (Doutorado) Lavras: UFLA, 2005.

OSPINA O., H. F.; DEBOUCK, D. G. **Morfologia de la planta de fríjol común (*Phaseolus vulgaris* L.)**: guia de estudio. 2. ed. Cali: CIAT, p. 50, 1981.

PEREIRA, P. A. A., SOUZA, C. R. B. Tipos de faseolina em raças crioulas de feijão no Brasil. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, v. 27, p.1219–1221,1992.

PEREIRA, T.; COELHO, C.M.M.; BOGO, A.; GUIDOLIN, A.F.; MIQUELLUTI, D.J. Diversity in common bean landraces from south Brazil. **Acta Botanica Croatica,** v.68 n.1 p.79–92, 2009.

PREZOTTI, L. C.; GOMES, J. A.; DADALTO, G. G.; OLIVEIRA, J. A. de. **Manual de Recomendação de Calagem e Adubação para o Estado do Espírito Santo** – 5ª aproximação. SEEA/INCAPER/CREDAGRO, Vitória, ES; 305p. 2007.

QUEIROGA, J.L.; ROMANO, E.D.U.; SOUZA, J.R.P.; MIGLIORANZA, E. Estimativa da área foliar do feijão-vagem (*Phaseolus vulgaris* L.) por meio da largura máxima do folíolo central. **Horticultura Brasileira**, v.21, n.1, p.64-68, 2003.

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

RATNAPARKHE, M. B.; TEKEOGLU, M.; MUEHLBAUER, F. J. Inter-simple-sequence-repeat (ISSR) polymorphisms are useful for finding markers associatéd with disease resistance gene clusters. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 97, n. 4, p. 515-519, 1998.

RAVI, M.; GEETHANJALI, S.; SAMMEYAFARHEEN, F. and MAHESWARAN, M. Molecular marker based genetic diversity analysis in rice (*Oryza sativa* L.) using RAPD and SSR markers. **Euphytica***,* v. 133, n. 2, p. 243-253, 2003.

REEDY, M.P; SARLA, N. REEDY, E.A. Inter simple sequence repeat (ISSR) polymorphism and its aplication plant breeding. **Euphytica**, v. 128, p 09 – 17, 2002.

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

ROY, J.K.; LAKSHMIKUMARAN, M.S.; BALYAN, H.S.; GUPTA, P.K. AFLP‐based genetic diversity and its comparison with diversity based on SSR, SAMPL, and phenotypic traits in bread wheat. **Biochemical Genetics**, v.42, p.43‐59, 2004.

SAKER, M.M.; YOUSSEF, S.S.; ABDALLAH, N.A.; BASHANDY H.S.; EL SHARKAWY, A.M**.** Genetic analysis of some Egyptian rice genotypes using RAPD, SSR and AFLP. **African Journal of Biotechnology.** v. 4, p. 882-890, 2005*.*

SANGLARD, D.A. **Melhoramento genético de feijoeiro com ênfase na piramidação genes de resistência a mancha angular**. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Viçosa – UFV, Viçosa, 2006.

SANTALLA, M., SEVILLANO, M. C. M.,MONTEAGUDO, A. B., DE RON, A. M. Genetic diversity of Argentinean common bean and its evolution during domestication. **Euphytica,** v.135, p.75–87, 2004.

SANTOS, V.S. **Seleção de pré-cultivares de soja baseada em índices**. Tese (Doutorado) - Universidade de São Paulo, Piracicaba, p. 104, 2005.

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

SILVA, G.O. da; PEREIRA, A.S.; SOUZA, V.Q.de; CARVALHO, F.I.F. de; OLIVEIRA, A.C. de; BERTAN, I.; FRITSCHE NETO R. Importância de caracteres na dissimilaridade de progênies de batata em gerações iniciais de seleção. **Bragantia,** Campinas, v.67, n.1, p.141-144, 2008.

SILVA, H. T. da; **Descritores mínimos indicados para caracterizar cultivares/ variedades de feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.)** – Embrapa – Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 32 p, 2005.

SILVA, M. L.; QUEIROZ, M.A.; FERREIRA, M.A.J.F.; BUSO, G.S.C. Caracterização morfológica e molecular de acessos de melancia. **Horticultura Brasileira**, v. 24, p. 405-409, 2006.

SIMON, M.V. **Caracterização Genética de Acessos de Vigna savi (Fabaceae) com Marcadores de DNA**. Recife,. (Dissertação) - Universidade Federal de Pernambuco, p. 110, 2002.

SINGH, D. The relative importance of characters affecting genetic divergence. **The Indian Journal of Genetics & Plant Breeding**, New Delhi, v.41, p.237-245, 1981.

SINGH, S. P.; GEPTS, P.; DEBOUCK, D.G. Races of common bean (*Phaseolus vulgaris, Fabaceae*). **Economic Botany,** New York, v. 45, n. 3, p. 379-396, 1991.

SINGH, S.P. Breeding for seed yield. In: Shoonhoven, A. van; Voysest, O. (eds). Common beans. **Research for crop improvement**. Cali, CAB International, CIAT, p. 383-443, 1993.

SOLANO, J. P. L. Patterns of phaseolins and RAPD analysis in domesticated species of *Phaseolus*. **Revista Fitotecnia Mexicana**, v. 28, p.195–202, 2005.

SONG, Q. J.; MAREK, L. F.; SHOEMAKER, R. C.; LARK, K. G.; CONCIBIDO, V. C.;DELANNAY, X.; SPECHT, J. E. A new integrated genetic linkage map of the soybean. **Theoretical and Applied Genetics,** Berlin, v. 109, p. 122-128, 2004.

SOUZA, A. B. de; ANDRADE, M. J. B. de; MUNIZ, J. A. Altura de planta e componentes do rendimento do feijoeiro em função de população de plantas, adubação e calagem. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras. v.27, n.6, p.1205-1213, 2003.

SOUZA, F. B.; CABRAL, P. D. S.; ALVES, D. S. ; SOARES, Y. J. B ; MARTINS FILHO, S. ; PEREIRA JUNIOR, O. S. ; MATTA, F. P. ; MIRANDA, F. D. ; SOARES, T. C. B. . Caracterização Molecular de Genótipos de Feijão Comum Cultivados nas Regiões Sul e Sudeste do Brasil. In: **Encontro Latino Americano de Pós Graduação**, São José dos Campos - SP. O paradigma do século XXI, 2009.

SOUZA, G.A. DE, CARVALHO, M.R.O., MARTINS, E.R., GUEDES, R.N.C.; OLIVEIRA, L.O. de. Diversidade genética estimada com marcadores ISSR em populações brasileiras de *Zabrotes subfasciatus.* **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.43, n.7, p.843-849, 2008 a.

SOUZA, S.G.H.; CARPENTIERI-PÍPOLO, V, RUAS, C.F.; CARVALHO, V.P.; RUAS, P.M.; GERAGE, A.C. Comparative analysis of genetic diversity among the maize inbred lines (*Zea mays* L.) obtained by RAPD and SSR markers. **Brazilian Archives of Biology and Technology.** v.51, n.1, p.183-192, 2008 b.

TAUTZ, D. Hypervariability of simple sequences as a general source for polymorphic DNA markers. **Nucleic Acids Resources**, v.17, p. 6463-6471, 1989.

VAN SCHOONHOVEN, A., VOYSEST, O. Common beans: research for crop improvement. **CIAT**, Cali, Colômbia. 1991.

VANDERBORGHT, T. A centralized database for the common bean and its use in diversity analysis. In: Gepts, P.L. (ed.) **Genetic resources of Phaseolus beans: their maintance, domestication, evolution, and utilization.** Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, p.51-65, 1988.

VIEIRA, C. **Cultura do feijão.** 2. ed. Viçosa, MG: UFV, 146 p, 1983.

VIEIRA, C.; PAULA JÚNIOR, T.J. de; BORÉM, A. **Feijão**. 2 ed, Viçosa, 600 p, 2006.

VIEIRA, E. A., FIALHO, J. F, FALEIRO, F. G., BELLON, G., FONSECA, K. G. da, CARVALHO, L. J. C. B., SILVA, M. S., PAULA-MORAES, S. V. de, SANTOS FILHO, M. O. S. dos, SILVA, K. N. da. Divergência genética entre acessos açucarados e não açucarados de mandioca. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.43, n.12, p.1707-1715, 2008.

VIEIRA, E.A.; CARVALHO, F.I.F.; BERTAN, I.; KOPP, M.M.; ZIMMER, P.D.; BENIN, G.; SILVA, J.A.G.; HARTWIG, I.; MALONE, G.; OLIVEIRA, A.C. Association between genetic distances in wheat (*Triticum aestivum*) as estimated by AFLP and morphological markers. **Genetics and Molecular Biology**, v.30, p.392-399, 2007.

VILHORDO, B. W.; MIKUSINSKI, O. M. F.; BURIN, M. E.; GANDOLFI, V. H. Morfologia. In: ARAUJO, R. S.; RAVA, C. A.; STONE, L. F.; ZIMMERMANN, M. J. de O. (Coord.). **Cultura do feijoeiro comum no Brasil**. Piracicaba: POTAFOS, p. 71-99, 1996.

VILHORDO, B. W.; MÜLLER, L**. Correlação entre caracterização botânica e classificação comercial em cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.)**. Porto Alegre: IPAGRO, 62 p. (IPAGRO. Boletim Técnico, 8), 1981.

WEBER, R.D.; MAY, P.E. Abundant class of human DNA polymorphisms which can be typed using the polymerase chain reaction. **American Journal Human Genetics**, v. 44, p. 388-396, 1989.

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

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

WOLFE, A. D.; LISTON, A. **Contributions of PCR-based methods to plant systematics and evolutionary biology.** In: SOLTIS, D.E.; SOLTIS, P.S.; DOYLE, J.J. (Ed.). Molecular systematics of plants II: DNA sequencing. Boston: Kluwer, p.43-86, 1998.

WOLFE, A.D. ISSR techniques for evolutionary biology. **Methods in Enzimology**, v. 395, p. 134 – 144, 2005.

WU, K.; JONES, R.; DANNAEBERGER, L.; SCOLNIK, P.A. Detection of microsatellite polymorphisms without cloning. **Nucleic Acid Research**, v. 22: p. 3257-3258, 1994.

YU, K.; PARK, S.J.; POYSA, V.; GEPTS, P. Intrgration of simple sequence repeat (SSR) maker intro a molecular linkage map of commom bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **The journal of Heredity**, v. 91, n. 6, p. 429-434, 2000.

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

ZUPPI, M., MENTEM, J.O.M., FERREIRA-LIMA, L.C.S., RABALHO, A.A., FRARE, V.C. Produtos fitossanitários utilizados no feijoeiro no Brasil: Evolução e situação atual. In: **Congresso Nacional De Pesquisa De Feijão**, 8, 2005, Goiânia: Embrapa Arroz e Feijão, p. 1261-1269, 2005.

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