

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E ENGENHARIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E MELHORAMENTO**

LUDIMILA PIMENTA ALVES

**CARACTERIZAÇÃO MORFOAGRONÔMICA E MOLECULAR DE
FEIJÃO COMUM**

**ALEGRE
2016**

LUDIMILA PIMENTA ALVES

**CARACTERIZAÇÃO MORFOAGRONÔMICA E MOLECULAR DE
FEIJÃO COMUM**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento do Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Genética e Melhoramento, na área de concentração Melhoramento de Plantas.
Orientador: Prof. Dr. Leandro Pin Dalvi.

ALEGRE
2016

Dados Internacionais de Catalogação-na-publicação (CIP)
(Biblioteca Setorial de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Espírito Santo, ES, Brasil)

A474c Alves, Ludimila Pimenta, 1991-
Caracterização morfoagronômica e molecular de feijão comum /
Ludimila Pimenta Alves. – 2016.
63 f. : il.

Orientador: Leandro Pin Dalvi.

Coorientadores: Adésio Ferreira ; Marcia Flores da Silva Ferreira.

Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento) –
Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Agrárias e
Engenharias.

1. Banco de germoplasma. 2. Diversidade. 3. Leguminosa.
4. Marcador molecular ISSR. 5. Trapoeraba. I. Dalvi, Leandro Pin.
II. Ferreira, Adésio. III. Ferreira, Marcia Flores da Silva.
IV. Universidade Federal do Espírito Santo. Centro de Ciências
Agrárias e Engenharias. V. Título.

CDU: 575:631

LUDIMILA PIMENTA ALVES

**CARACTERIZAÇÃO MORFOAGRONÔMICA E MOLECULAR DE
FEIJÃO COMUM**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento do Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Genética e Melhoramento na área de concentração Melhoramento de Plantas.

Aprovada em 31 de agosto de 2016.

COMISSÃO EXAMINADORA



Prof. Dr. Leandro Pin Dalvi
Universidade Federal do Espírito Santo
Orientador



Prof^a. Dr^a. Monique Moreira Moulin
Instituto Federal do Espírito Santo



Prof. Dr. Hugo Bolsoni Zago
Universidade Federal do Espírito Santo

A Deus pelos milagres que opera em mim e através de mim.

Ao meu pai Josemar, meus irmãos Pricila e Junior e ao meu esposo Leandro pelo constante apoio e incentivo em todos os momentos da minha vida.

“Ora, àquele que é poderoso para fazer tudo muito mais abundantemente além daquilo que pedimos ou pensamos, segundo o poder que em nós opera,”

(Efésios 3.20)

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por me amar incondicionalmente e por me conceder a graça de cursar esta pós-graduação.

Ao meu pai, Josemar Alves, pelo amor, amparo, ensinamentos, carinho e por sempre acreditar em mim, obrigada!

Aos meus irmãos Pricila Aparecida Pimenta Alves e Josemar Alves Junior, pela amizade, carinho e por sempre estarem presentes quando necessito. Amo vocês!

Ao meu esposo e amigo Leandro Fernandes dos Santos, por ser o meu maior incentivador, mostrando-me todos os dias que sou capaz e que posso ir além. Por sempre estar ao meu lado e me auxiliar nos momentos que necessito. Por toda compreensão, carinho e amor que juntos cultivamos. Você é uma benção em minha vida. Amo-te para sempre!

A Universidade Federal do Espírito Santo, por intermédio do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento, pela oportunidade de realizar o curso.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo auxílio financeiro que viabilizou o desenvolvimento deste trabalho.

Ao professor Dr. Leandro Pin Dalvi, pela excelente e valiosa orientação, pelo apoio, atenção e conhecimentos transmitidos no decorrer deste trabalho e pela leitura e correção do texto.

À amiga Lidiane dos Santos Gomes, por toda atenção e ajuda durante o desenvolvimento deste trabalho. Pela confiança, incentivo e por todo conhecimento transmitido.

Aos demais colegas da equipe de trabalho, Evander Evander Favoreto Feletti, Ramon Ramon Alexandre Capucho e Cléver Geraldo Coelho, por todas as contribuições neste trabalho e pelos momentos de descontração.

À Marlete Littig, pela ajuda na tabulação dos dados.

Ao Rafael Fonseca Zanotti, pelo auxílio na fotodocumentação.

À querida Luina Ribeiro Noia, pelo significativo ensino e auxílio no início das análises moleculares.

À Paula Mauri Bernardes, por me ensinar a ter independência no Laboratório de Genética e por todo auxílio nas análises moleculares. Obrigada!

Aos demais colegas do Laboratório de Genética, Drielli Canal, Marina Santos Carvalho, Iana Pedro da Silva Quadros, Katiuss Ferreira Borges, Rodrigo Monte Lorenzoni, Jheniffer Abeldt Christ, Carolina de Oliveira Bernardes, Luiza Alves Mendes e Matheus Alves, por todas as contribuições.

Aos amigos que conquistei no período do mestrado, Glaucia de Mello Cunha, Adelson Lemes da Silva Júnior, Lucimara Cruz de Souza e Paula Karolina Rangel Amorim, por todo apoio. Contem sempre comigo!

Aos eternos parceiros desde a graduação, Manoel Victor Borges Pedrosa e Roberta Pena da Paschoa, pela amizade.

Ao professor Dr. Adésio Ferreira, pela coorientação, pelas sugestões e ajuda durante as análises e realização do trabalho.

À professora Dr^a. Marcia Flores da Silva Ferreira, por toda atenção e apoio recebidos e pela coorientação neste trabalho.

À professora Dr^a Monique Moreira Moulin, pela amizade, atenção e contribuições para a discussão deste trabalho e ainda pela participação como membro da banca examinadora da defesa.

Ao corpo docente do curso de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento, pelos conhecimentos transmitidos.

Ao Leonardo Mardgan, pelas ajudas e socorro durante o período de instalação do experimento.

Ao professor Dr. Hugo Bolsoni Zago pela participação como membro da banca examinadora da defesa.

RESUMO

O feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*) é uma leguminosa importante para a população mundial por ser fornecedora de proteínas. A modernização da agricultura têm provocado a perda de diversidade genética do feijoeiro. As atividades de coleta e caracterização do germoplasma permitem conhecer genótipos regionais e contribuem para minimizar a perda da diversidade genética. O objetivo deste trabalho foi caracterizar 20 genótipos de feijoeiro do banco de germoplasma do Departamento de Produção Vegetal do Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo, por meio de marcadores morfoagronômicos, convivência com trapoeraba e marcadores moleculares. Foram utilizados 5 genótipos comerciais e 15 regionais adquiridos com produtores familiares, no município de Alegre, Espírito Santo, região do Caparaó Capixaba. Foram realizadas análises morfoagronômicas, análise da convivência com a planta daninha *Commelina diffusa* e análises moleculares utilizando-se 9 iniciadores ISSR. Os resultados mostraram que não houve concordância completa entre os agrupamentos feitos através dos caracteres qualitativos e moleculares. Há significativa diversidade genética na amostra de genótipos de feijoeiro provenientes do município de Alegre, Espírito Santo, região do Caparaó Capixaba (regionais), mas entre os genótipos comerciais, a diversidade é relativamente estreita. As cultivares comerciais estudadas apresentaram pequena dissimilaridade entre si. A trapoeraba pode influenciar no desenvolvimento do feijoeiro, sendo que as cultivares podem apresentar comportamento diferente em relação à convivência. A caracterização morfoagronômica e molecular mostraram-se eficientes na diferenciação dos genótipos e para ambos, os acessos foram considerados distintos.

Palavras-chave: Banco de germoplasma. Diversidade. Leguminosa. Marcador molecular ISSR. Trapoeraba.

ABSTRACT

The common bean (*Phaseolus vulgaris*) is an important legume for the world population to be supplier of protein. The modernization of agriculture has caused the loss of genetic diversity bean. The activities of collection and characterization of germplasm possible to know regional genotypes and contribute to minimize the loss of genetic diversity. The aim of this study was to characterize 20 bean genotypes of germplasm bank of the Plant Production Department of School of Agricultural Sciences and Engineering at the Federal University of Espírito Santo, through morphological markers, living with spiderwort and molecular markers. They used commercial genotypes 5 and 15 regional acquired from family farmers in the Alegre county, Espírito Santo, Caparaó Capixaba region. Morphoagronomic analyzes were performed, analysis of coexistence with the weed *Commelina diffusa* and molecular analysis using 9 ISSR primers. The results showed that there was complete agreement between the groupings made by the qualitative and molecular characters. There is a significant genetic diversity in the sample bean genotypes from the Alegre county, Espirito Santo, Capixaba Caparaó region (regional), but between commercial genotypes, diversity is relatively narrow. Commercial cultivars showed little dissimilarity between themselves. The spiderwort can influence the development of the bean, and the cultivars may exhibit different behavior in relation to coexistence. The morphoagronomic and molecular characterization were effective in differentiating the genotypes and both accessions were considered distinct.

Keywords: Bank of germplasm. Diversity. Legumes. ISSR molecular marker. Spiderwort.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Comparativo de produção, área plantada e produtividade de feijão total nos estados onde ocorreu maior produção do grão na safra 2014/2015	17
Tabela 2 - Identificação, genótipos, origem e teor de água (TA) dos grãos de feijoeiro (<i>P. vulgaris</i>), pertencentes à coleção de germoplasma do CCAE-UFES	24
Tabela 3 - Atributos físicos do solo utilizado no experimento.....	25
Tabela 4 - Atributos químicos do solo utilizado no experimento.....	25
Tabela 5 - Sequência dos 41 iniciadores ISSR testados.....	31
Tabela 6 - Características morfoagronômicas avaliadas nos genótipos comerciais e regionais de feijoeiro do Departamento de Produção Vegetal do Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo.....	37
Tabela 7 - Grupos dos genótipos de feijoeiro do Departamento de Produção Vegetal do Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo, a partir do dendrograma obtido através de dados qualitativos binários com a Coincidência Simples e o método de agrupamento UPGMA	46
Tabela 8 - Diâmetro do caule, comprimento da planta e número de vagens por planta de genótipos de feijoeiro com interação ou não de trapoeraba.....	48
Tabela 9 - Diâmetro do caule, comprimento da planta, número de vagens por planta de 20 genótipos de feijoeiro sem interação de trapoeraba.....	49
Tabela 10 - Peso total de sementes, de genótipos de feijoeiro com interação ou não de trapoeraba.....	50

Tabela 12 - Sequência dos iniciadores ISSR utilizados, número total de bandas produzidas (NTB), número de bandas polimórficas (NBP); porcentagem de bandas polimórficas (PBP).....51

Tabela 13 - Agrupamento dos genótipos de feijoeiro do Departamento de Produção Vegetal do Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo, a partir do dendrograma obtido por meio de iniciadores ISSR, com o complemento do coeficiente de similaridade de Jaccard e pelo método de agrupamento UPGMA55

Tabela 14 - Peso médio de sementes.....56

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	REVISÃO DE LITERATURA	17
2.1	PRODUÇÃO DE FEIJOEIRO NO BRASIL	17
2.2	<i>PHASEOLUS VULGARIS</i> – Características botânicas.....	18
2.3	VARIABILIDADE GENÉTICA EM <i>P. VULGARIS</i>	19
2.4	CARACTERIZAÇÃO DE FEIJOEIRO POR CARACTERES MORFOAGRONÔMICOS	20
2.5	CONVIVÊNCIA DE PLANTAS DANINHAS COM FEIJOEIRO	21
2.6	ANÁLISE DA DiversiDADE Genética ATRAVÉS DE MARCADORES MOLECULARES	22
3	MATERIAIS E MÉTODOS	23
3.1	LOCAL.....	23
3.2	MATERIAL GENÉTICO	23
3.3	IMPLANTAÇÃO DO EXPERIMENTO.....	24
3.4	ANÁLISES MORFOAGRONÔMICAS.....	26
3.5	ANÁLISE DA Convivência com trapoeraba	27
3.5.1	Diâmetro do Caule	28
3.5.2	Comprimento da Planta	28
3.5.3	Número de Vagens por Planta	28
3.5.4	Peso Total de Sementes	28
3.5.5	Peso Médio de Sementes	29
3.5.6	Massa Fresca da Trapoeraba	29
3.5.7	Massa Seca da Trapoeraba	29
3.5.8	Relação Massa Fresca/Massa Seca da Trapoeraba	29
3.6	ANÁLISES MOLECULARES	30
3.6.1	Extração de DNA	30
3.6.2	Análises dos Iniciadores ISSR	31
3.6.3	Análise dos Dados Moleculares	33
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	35
3.1	CARACTERIZAÇÃO MORFOAGRONÔMICA.....	35
3.1.1	Análise da Diversidade Genética Utilizando Variáveis Morfológicas 45	

3.2	ANÁLISE DA CONVIVÊNCIA COM TRAPOERABA	47
3.3	ANÁLISE DE DIVERSIDADE GENÉTICA UTILIZANDO MARCADORES MOLECULARES ISSR.....	51
4	CONCLUSÕES	57
5	REFERÊNCIAS	58

1 INTRODUÇÃO

O feijoeiro é um dos alimentos mais completos da dieta alimentar humana, por ser fonte de proteínas, ferro, cálcio, zinco, vitaminas do complexo B, carboidratos, fibras e lisina. E ainda representa uma das alternativas de exploração agrícola em pequenas propriedades, sendo uma importante fonte de renda (SILVA; ROCHA; CANNIATTI BRAZACA, 2010).

No Brasil, na safra 2014/15, os três maiores produtores nacionais dessa leguminosa foram Paraná (640,9 mil t), Minas Gerais (512,4 mil t) e Mato Grosso (484,5 mil t), que responderam, em média, por 52,57% da produção interna, com destaque para o Paraná que participa em torno de 21% do total nacional (CONAB, 2016). Sendo que a agricultura familiar é responsável por quase 70% da produção nacional de feijão (IBGE, 2006).

Pela substituição dos genótipos regionais por linhas de sementes comerciais, há uma tendência para a perda da variabilidade genética mantida pela agricultura familiar (CARDOSO, 2009). Sendo assim, é importante se obter conhecimento sobre a diversidade genética de genótipos regionais de *P. vulgaris* em comparação com linhas comerciais, a fim de contribuir com programas de melhoramento da espécie e permitir que os produtores façam bom uso da variabilidade existente.

Habitualmente, a diversidade genética em feijoeiro tem sido estudada através da caracterização morfológica, agronômica e molecular. Na caracterização morfológica, descritores botânicos facilmente visíveis ou mensuráveis, são observados sistematicamente e em seguida registrados, tornando-se então marcadores fenotípicos e que a princípio podem ser expressos em todos os ambientes (GUIMARÃES, 2005; SILVA et al., 2009).

Já as características agronômicas são as que fornecem informações sobre o desempenho agronômico de uma espécie ou de uma subamostra, como por exemplo, produtividade, época de floração, tamanho do fruto, entre outras (MELLO, 2011). São mais influenciadas pelos fatores do ambiente, mas são muito importantes

na avaliação de acessos, pois refletem a possibilidade de sua utilização de forma direta no melhoramento genético.

A caracterização de genótipos por marcadores moleculares complementa a caracterização morfoagronômica, pois estes não sofrem a influência do ambiente. Os iniciadores ISSR (*Inter Simple Sequence Repeat*) são recomendados para estudos de variabilidade genética, pois não exigem um conhecimento prévio do genoma (GONZÁLEZ; COULSON; BRETTELL, 2002), apresentam elevado grau de polimorfismo e reprodutibilidade (BORBA et al., 2005).

A competição com plantas daninhas tem sido considerada como um dos limitantes à produção do feijoeiro comum (GOMES, 2015), sendo assim, esta pode ser usada como diferenciador de genótipos de feijoeiro, onde cada genótipo pode apresentar comportamentos distintos quanto à convivência. E também há a necessidade de se testar o mesmo genótipo em diferentes ambientes (com e sem a presença da planta daninha), para se estimar o quanto a planta daninha pode interferir no seu desenvolvimento e produção.

Nesse contexto, este trabalho teve o objetivo de caracterizar 20 genótipos de feijoeiro do banco de germoplasma do Departamento de Produção Vegetal do Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo, por meio de marcadores morfoagronômicos, convivência com trapoeraba e marcadores moleculares.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 PRODUÇÃO DE FEIJOEIRO NO BRASIL

A importância de feijão no Brasil extrapola o aspecto econômico devido a sua relevância como componente cultural e alimentício, podendo ser considerado um dos pilares da dieta brasileira (BARBOSA; GONZAGA, 2012).

A Tabela 1 mostra a relação de produção, área plantada e produtividade de feijão nos estados onde ocorreu maior produção do grão na safra 2014/2015, Paraná, Minas Gerais, Bahia, Mato Grosso e Goiás.

Tabela 1 - Comparativo de produção, área plantada e produtividade de feijão total nos estados onde ocorreu maior produção do grão na safra 2014/2015

Estado	Produção (Em mil t)	Área (Em mil ha)	Produtividade (Em kg/ha)
Paraná	640,9	405,7	1.580
Minas Gerais	512,4	339,0	1.512
Mato Grosso	484,5	286,8	1.689
Bahia	293,9	447,2	657
Goiás	236,8	101,0	2.345

Fonte: Adaptado de Conab (2016).

A maior produção de feijoeiro no país se dá em pequenas propriedades. Dados do Censo Agropecuário de 2006 afirmam que a agricultura familiar é responsável por quase 70% da produção nacional de feijão (IBGE, 2006; BARBOSA; GONZAGA, 2012).

Os grãos utilizados no plantio de feijão em pequenas propriedades geralmente são obtidos de outros pequenos agricultores, que vêm utilizando genótipos regionais por várias gerações. Estes genótipos representam um excelente repositório de genes de grande interesse para a pesquisa, em particular para a utilização e gerenciamento dessa variabilidade (FONSECA et al., 2015).

2.2 *PHASEOLUS VULGARIS* – CARACTERÍSTICAS BOTÂNICAS

Do gênero *Phaseolus*, *Phaseolus vulgaris* L. ($2n=2x=22$) é a espécie mais cultivada e consumida no Brasil e no mundo. É também um dos produtos agrícolas de maior importância sócio-econômica, pelo grande volume de mão-de-obra que emprega durante o ciclo da cultura (VIEIRA, 2006).

Trata-se de um dos alimentos mais importantes e completos da dieta alimentar humana, por ser fonte de proteínas, ferro, cálcio, zinco, vitaminas do complexo B, carboidratos, fibras e lisina. Apresenta também baixo teor de lipídios (PEDROSA et al., 2015).

Pertence à classe Magnoliopsida, sub-classe Rosidae, ordem Fabales e à família Fabaceae (USDA, 2012). Os nomes comuns que a espécie possui são: feijoeiro, feijão comum, feijão ou feijoeiro comum, este último é o principal nome citado para a espécie no meio científico.

O feijoeiro não possui um centro específico de origem, pois sua domesticação foi de forma independente, há 4000 anos, originando dois pools gênicos, o andino e o mesoamericano. Esses dois grupos gênicos foram reconhecidos em estudos da morfologia, características agrônômicas, fração proteica da semente e diferentes tipos de marcadores moleculares que deram a indicação de dois eventos de domesticação independentes. (BITOCCHI et al., 2012).

Dependendo do hábito de crescimento, o feijoeiro pode ser considerado uma planta herbácea, trepadeira ou rasteira. Os possíveis hábitos de crescimento são: determinado, onde no advento das flores, cessam a emissão e alongação de folhas e ramos; ou então do tipo indeterminado, onde as plantas continuam crescendo após o início da floração (GRIGOLO, 2015).

É também, uma planta sensível às variações climáticas. Possui ciclo vegetativo entorno de 65 a 120 dias, variando de acordo com o genótipo e das condições da

época de cultivo. Sendo assim o cultivo pode se dar em três safras (MONTEIRO; ANGULO FILHO; MONTEIRO, 2010).

Na 1ª safra, ou “safra das águas”, a semeadura é feita entre agosto e outubro; é colhida a partir de novembro até março, com maior intensidade em dezembro. Na 2ª safra, ou “safra da seca”, a semeadura se dá entre os meses de janeiro e abril; colhida, nesse caso, de abril-maio até junho-julho. Já na 3ª safra, ou “safrinha” ou “safra de outono-inverno”, a semeadura é realizada a partir de maio, com colheita entre agosto e outubro. Na safra de outono-inverno o cultivo é tipicamente realizado em áreas irrigadas (POSSE et al., 2010).

O feijoeiro é a cultura de grãos que exibe o mais alto nível de variação quanto ao hábito de crescimento, características das sementes (tamanho, forma, cor), maturidade e adaptação (CARNEIRO et al., 2005). Sendo assim, o agricultor deve dar preferência a uma variedade que seja resistente às doenças, tenha alto rendimento ou possua uma excelente qualidade de grão. E o mais importante, precisa ser apropriada ao clima da região.

2.3 VARIABILIDADE GENÉTICA EM *P. VULGARIS*

Esses genótipos apresentam variabilidade genética em características, como adaptabilidade a condições ecológicas, tolerância ou resistência a pragas e doenças e estresses ambientais, porte de planta, hábito de crescimento, ciclo cultural, cor, brilho e tamanho das sementes, e características culinárias (ZILIO et al., 2013).

Existe ampla diversidade de preferência dos consumidores quanto ao tipo de grão de feijão, especialmente no que se refere à forma, tamanho, brilho e cores. Os grãos mais aceitos são os pequenos e com brilho opaco. As cultivares do tipo carioca contam com a preferência da maioria dos consumidores brasileiros. Cerca de 70% da área plantada com feijão no Brasil é ocupada por grãos deste grupo comercial (CELIN, 2011).

Essa preferência do consumidor, captada pelas instituições de pesquisa, orienta a seleção e a obtenção de novas cultivares, que possam oferecer boas características agrônomicas, produtivas e adequado valor comercial no varejo (KAPPES et al., 2008).

2.4 CARACTERIZAÇÃO DE FEIJOEIRO POR CARACTERES MORFOAGRONÔMICOS

O conhecimento da diversidade genética entre os genótipos regionais e os genótipos melhorados é importante para subsidiar programas de melhoramento de plantas (CARDOSO, 2009). Habitualmente, a diversidade genética em feijoeiro tem sido estudada por meio de descritores morfoagronômicos, tais como hábito de crescimento, tipo de semente, peso de 100 grãos, entre outros. Para a caracterização dos acessos, os aspectos morfológicos e fenológicos são observados sistematicamente através do confronto com descritores específicos (GUIMARÃES, 2005).

A caracterização morfoagronômica fornece várias informações sobre a diversidade genética de cada acesso estudado. Possibilitando avanços promissores na descrição da divergência genética entre acessos, o que é fundamental para a manutenção e exploração do potencial das coleções. Os caracteres morfoagronômicos podem ser do tipo qualitativo ou quantitativo (GUIMARÃES et al., 2007).

Os caracteres qualitativos são características morfológicas da planta, governadas por um ou poucos genes. São de fácil aferição, possuem menor custo e são menos influenciados pelo ambiente do que os caracteres quantitativos (CABRAL, 2010).

E os caracteres quantitativos fornecem informações sobre o desempenho agrônomico de uma espécie ou de uma subamostra, como por exemplo, produtividade, época de floração, tamanho do fruto, entre outras. São os mais influenciados pelo ambiente, mas são muito importantes na avaliação de acessos,

pois refletem o real potencial produtivo e a possibilidade de utilização de forma direta no melhoramento genético. Geralmente são poligênicos, governados por vários genes. Os principais caracteres de interesse econômico são quantitativos (VIEIRA et al., 2008).

2.5 CONVIVÊNCIA DE PLANTAS DANINHAS COM FEIJOEIRO

O feijoeiro apresenta baixa capacidade competitiva em função do lento crescimento inicial e sistema radicular superficial, o que o torna uma cultura extremamente prejudicada pela presença de plantas daninhas (TEIXEIRA et al. 2009).

As plantas daninhas além de competirem pelos fatores básicos de produção, como água, nutrientes e luz, podem afetar o desenvolvimento e o rendimento da cultura devido a manifestação de efeitos alelopáticos (FREITAS, et al., 2009). E algumas espécies podem funcionar como hospedeiras intermediárias de patógenos, insetos-praga e, principalmente, nematóides (DOURADO NETO; FANCELLI, 2000).

Quanto aos diferentes hábitos de crescimento, as variedades de feijão mais sensíveis à competição são aquelas pertencentes aos tipos I e II, devido ao seu porte ereto e a presença de poucos ramos axilares ou laterais, que retardam a velocidade de recobrimento da área (SANTOS; GAVILANES, 2006).

O período crítico de interferência, na lavoura de feijoeiro, ocorre entre 10 a 35 dias após a emergência, quando a presença de plantas daninhas poderá provocar a redução média de 52% do rendimento da cultura. O componente de produção mais prejudicado pela presença de plantas daninhas na lavoura é o número de vagens por planta, o qual poderá ser reduzido (DOURADO NETO; FANCELLI, 2000).

As espécies do gênero *Commelina* estão entre as plantas daninhas mais frequentes na cultura do feijoeiro. Estas possuem hábito perene, fácil propagação, alta capacidade de sobreviver em condições adversas e têm preferência por lugares

úmidos e solos férteis (CURY et al., 2012). Além de serem altamente tolerantes a vários herbicidas (SANTOS et al., 2001).

A alta capacidade competitiva da *Commelina diffusa* L., família Commelinaceae, trapoeraba, se deve às suas características morfológicas, como ramos longos e sistema radicular com grande número de raízes secundárias, que aumentam a superfície da absorção dos nutrientes do solo, e ainda possuem um duplo mecanismo de reprodução por meio de sementes e enraizamento dos nós (ROCHA; RODELLA; MARTINS, 2007).

Estudando as características agrônômicas e nutricionais de quatro cultivares de feijoeiro, influenciadas pela interferência de *Commelina diffusa*, Gomes (2015) observou que a convivência com trapoeraba afetou negativamente algumas características de crescimento, produção e nutricional como: número de folhas, índice de colheita, peso médio de sementes e teor de ferro e zinco nas folhas.

2.6 ANÁLISE DA DIVERSIDADE GENÉTICA ATRAVÉS DE MARCADORES MOLECULARES

A tecnologia de marcadores moleculares é utilizada para aumentar a eficiência de seleção de germoplasma e a maximização dos ganhos genéticos (SOUZA et al., 2010). Pois permitem aos melhoristas o acesso e a seleção da variabilidade genética ao nível de sequência de DNA, para a determinação de polimorfismo genético (TOPPA; JADOSKI, 2013).

Os marcadores moleculares têm sido empregados como forma de avaliar a similaridade ou dissimilaridade genética de forma mais precisa, pois não sofrem influência do ambiente, e são virtualmente ilimitados, podendo cobrir todo o genoma do organismo. Além do mais, podem auxiliar na avaliação da redundância e deficiências das coleções de germoplasma (AGARWAL; SHRIVASTAVA; PADH, 2008).

Dentre as técnicas que têm sido empregadas para estudos de variabilidade genética está o ISSR (*Inter Simple Sequence Repeats*), que é um marcador de elevado grau de polimorfismo e reprodutibilidade (BORBA et al., 2005). Envolvem a PCR para amplificar regiões entre microssatélites idênticos orientados em direções opostas, não requerendo informações prévias de sequências de DNA (SILVA et al., 2011).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 LOCAL

O experimento foi conduzido no ano agrícola 2015/2016, em casa de vegetação no Setor de Entomologia do Núcleo de Desenvolvimento Científico e Tecnológico em Manejo Fitossanitário de Pragas (NUDEMAFI), Departamento de Produção Vegetal no Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES), em Alegre-ES (Latitude $-20^{\circ}45'$, Longitude $-41^{\circ}32'$). O clima predominante, segundo o sistema Köppen, é do tipo Cwa, tropical quente e úmido no verão e inverno frio e seco, com temperatura anual média de cerca de 23°C e precipitação anual média de aproximadamente 1300 mm (LIMA et al., 2008).

3.2 MATERIAL GENÉTICO

O material genético constituiu-se de 20 acessos de feijoeiro (*P. vulgaris*) (Tabela 2), sendo 5 cultivares comerciais e 15 genótipos regionais, pertencentes a coleção de germoplasma de feijoeiro do Departamento de Produção Vegetal do Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo (CCAUE-UFES). Os genótipos regionais foram adquiridos inicialmente com produtores familiares, no município de Alegre, Espírito Santo, região do Caparaó Capixaba. Os grãos utilizados possuíam a mesma idade e o teor de água seguiram os critérios de Brasil (2009).

Tabela 2 - Identificação, genótipos, origem e teor de água (TA) dos grãos de feijoeiro (*P. vulgaris*), pertencentes à coleção de germoplasma do CCAE-UFES

Identificação	Genótipo	Origem	TA (%)
T1	BRS Pontal	comercial	10,4
T2	BRS Pérola	comercial	10,5
T3	BRS Ametista	comercial	10,6
T4	BRS Estilo	comercial	10,7
T5	BRS Agreste	comercial	10,6
T6	Carioca Comum	Alegre-ES	11,0
T7	Manteigão	Alegre-ES	10,8
T8	Mulatinho	Alegre-ES	10,7
T9	Mulato	Alegre-ES	11,0
T10	Preto 90 dias	Alegre-ES	10,8
T11	Preto	Alegre-ES	10,5
T12	Preto Jalo	Alegre-ES	10,2
T13	Carioca Pintadinho	Alegre-ES	10,8
T14	Carioca Preto	Alegre-ES	10,7
T15	Corujinha	Alegre-ES	10,2
T16	Rosinha Carioca	Alegre-ES	10,8
T17	Mulato Manteigão	Alegre-ES	11,3
T18	Amendoim	Alegre-ES	10,8
T19	Vermelho 1	Alegre-ES	10,6
T20	Vermelho 2	Alegre-ES	10,4

Fonte: Elaborado pela autora.

3.3 IMPLANTAÇÃO DO EXPERIMENTO

O experimento (Figura 1) foi instalado no dia 23 de março de 2015, no esquema fatorial simples 2 x 20; sendo o fator 1, presença e ausência de trapoeira e fator 2, vinte genótipos de feijoeiro, num delineamento inteiramente casualizado, com três repetições, totalizando 120 unidades experimentais. Foi utilizado vaso de 8 litros com 8,5 Kg de solo Latossolo Vermelho de textura média, coletados na área experimental do Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo localizado distrito de Rive- Alegres/ES.

Figura 1 – Experimento implantado, no estágio de floração.das plantas



*1. Ambiente sem trapoeraba; 2. Ambiente com trapoeraba

Fonte: Acervo pessoal da autora.

Nas Tabelas 3 e 4 são apresentados os atributos físicos e químicos do solo utilizado.

Tabela 3 - Atributos físicos do solo utilizado no experimento

Solo	Granulometria ⁽¹⁾		
	Areia	Silte	Argila
A ⁽²⁾	67	6	27

----- g Kg⁻¹ -----

*⁽¹⁾ Método da Pipeta (Agitação lenta): Areia ($\emptyset > 0,05$ mm); Silte (\emptyset de 0,05 – 0,002 mm); Argila ($\emptyset < 0,002$ mm) (EMBRAPA,1997); ⁽²⁾ Latossolo Vermelho Amarelo Eutrófico

Fonte: Elaborado pela autora.

Tabela 4 - Atributos químicos do solo utilizado no experimento

Solo	pH	MO (dag Kg ⁻¹)	Fe (mg dm ⁻³)	Zn (mg dm ⁻³)	H+Al	SB	CTC	V (%)
					(cmol dm ⁻³)			
A ⁽²⁾	6,00	3,10	90	2,60	2,10	4,10	4,10	66,00

*Extração e determinação: pH em água 1:2,5; MO: Matéria orgânica- dicromato de sódio (1mil L⁻¹) e titulação pelo sulfato ferroso (0,5 mol L⁻¹); Fe e Zn: HCl 0,05 mol/L +H₂SO₄ 0,025 mol/L (EMBRAPA,1997); ⁽²⁾ Latossolo Vermelho Amarelo Eutrófico

Fonte: Elaborado pela autora.

A espécie de planta daninha utilizada foi *Commelina diffusa* L, trapoeraba, cujo plantio foi feito por meio de secções de caule com três nós sendo duas secções por vaso, plantadas simultaneamente com cinco sementes de feijão. E 10 dias após o plantio foi realizado um desbaste para permanecer apenas duas plantas de feijão por vaso.

Para garantir o estabelecimento das plantas, os vasos foram irrigados diariamente, durante 10 dias, depois as irrigações foram realizadas com base nas necessidades evapotranspiratórias da cultura.

Foi realizada a caracterização dos genótipos por meio de caracteres morfoagronômicos, analisado o efeito da convivência com a planta daninha, nos componentes de produção e a dissimilaridade entre os genótipos foi estimada através de iniciadores ISSR.

3.4 ANÁLISES MORFOAGRONÔMICAS

As análises foram realizadas pelo mesmo avaliador e ocorreram nos estádios de plântula, floração, maturação fisiológica, maturação de colheita e pós-colheita. Foram avaliados 29 caracteres morfoagronômicos, sendo 26 indicados pela relação de Descritores Mínimos de Feijão, preconizada no Decreto 2366/97 (BRASIL, 1997): dias para a emergência, presença de antocianina nos cotilédones, presença de antocianina no hipocótilo, dias para a floração, tipo de planta, presença de antocianina no caule, índice comprimento/largura da folha, rugosidade na folha, cor da flor (uniformidade), cor da asa, cor do estandarte, posição da inflorescência terminal, uniformidade da cor da vagem durante a maturação fisiológica, cor primária da vagem, tom da cor secundária da vagem, pilosidade da vagem, uniformidade da cor da vagem durante a maturação de colheita, perfil da vagem, ápice da vagem, forma do dente apical da vagem, posição do dente apical da vagem, cor da semente (uniformidade), peso de 1000 sementes, forma da semente, grau de achatamento da semente, brilho da semente, halo na semente (presença), cor do halo da semente e grupo comercial. Após a colheita, os grãos de cada genótipo foram classificados

quanto ao tipo de coloração que possuem, através da avaliação visual e também foi feito o registro fotográfico das sementes.

3.4.1.1 Análise dos Caracteres Morfoagronômicos

Em casa de vegetação, os genótipos foram avaliados quanto às características morfológicas por esquema de código com valores de 1 a 9, posicionado junto à descrição de cada parâmetro. Em seguida realizou-se a interpretação dessa codificação.

Para a análise da diversidade através dos caracteres morfoagronômicos, os dados referentes às 11 variáveis (presença de antocianina (pigmentação) nos cotilédones, no hipocótilo e no caule, rugosidade da folha, uniformidade da cor da vagem durante a maturação fisiológica e a maturação de colheita, forma e posição do dente apical da vagem, uniformidade da cor da semente, presença de halo na semente e pilosidade da vagem) foram submetidos ao método de Coincidência Simples e método de agrupamento UPGMA para obtenção do dendrograma.

3.5 ANÁLISE DA CONVIVÊNCIA COM TRAPOERABA

Os genótipos dos ambientes com e sem a interação com trapoeraba foram avaliados quanto aos seguintes caracteres: diâmetro do caule, comprimento da planta, número de vagens por planta, peso total de sementes, peso médio das sementes, massa fresca da trapoeraba, massa seca trapoeraba e relação massa fresca/massa seca da trapoeraba.

Os dados foram analisados no Programa SAEG 8.0 (1999) e submetidos à análise de variância para cada tipo de variável e a diferença testada pelo teste F. No caso de significância, quanto à diferenciação da trapoeraba, utilizou-se o teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

3.5.1 Diâmetro do Caule

Foi determinado o diâmetro do caule, utilizando um paquímetro digital. Antes de realizar as leituras, o aparelho foi calibrado de acordo com as recomendações do manual. As medições foram feitas amostrando-se todas as plantas da unidade experimental.

3.5.2 Comprimento da Planta

No estágio de floração, todas as plantas de feijoeiro do experimento, nas 120 parcelas experimentais foram medidas. A medição foi realizada através da condução de barbante ao longo do crescimento das plantas de feijão, este era conduzido no caule das plantas a partir do solo até a altura final da planta. E em seguida, efetuava-se a medição do barbante em trena milimetrada. As medições de todas as plantas ocorreram no mesmo dia.

3.5.3 Número de Vagens por Planta

Foi determinado mediante a contagem do número total de vagens, avaliado em todas as plantas.

3.5.4 Peso Total de Sementes

O peso total de sementes foi determinado mediante a biomassa dos grãos para cada planta. Os grãos foram pesados em balança analítica.

3.5.5 Peso Médio de Sementes

O peso médio de semente foi determinado mediante a biomassa dos grãos em relação ao número de grãos da planta. Para avaliação do peso, os grãos foram pesados em balança analítica.

$$\text{peso médio de sementes} = \frac{\text{biomassa das sementes}}{\text{número de sementes}}$$

3.5.6 Massa Fresca da Trapoeraba

No estágio de maturação de colheita, coletou-se a trapoeraba vaso por vaso, acondicionando as plantas em sacolas de papel separadas e identificadas. Estas foram levadas ao laboratório para realizar a pesagem em balança de precisão.

3.5.7 Massa Seca da Trapoeraba

Após a coleta e pesagem da trapoeraba, as sacolas de papel, já identificadas, foram submetidas à secagem em estufa de ventilação forçada de ar a 60-70 °C, por 72 horas, e posteriormente pesadas em balança de precisão.

3.5.8 Relação Massa Fresca/Massa Seca da Trapoeraba

Foi obtida pela fórmula:

$$\text{relação massa fresca/massa seca da trapoeraba} = \frac{\text{massa fresca da trapoeraba}}{\text{massa seca da trapoeraba}}$$

3.6 ANÁLISES MOLECULARES

3.6.1 Extração de DNA

Em laboratório, foram coletadas folhas jovens dos 20 genótipos e imediatamente procedeu-se com a extração de DNA genômico total, que foi realizada segundo o protocolo de Doyle e Doyle (1990), com modificações propostas pelo IAC (Instituto Nacional de Campinas).

As folhas foram primeiramente maceradas na presença de nitrogênio líquido com auxílio de um graal com pistilo para obtenção de um pó fino, o qual foi transferido para microtubos de 1,5 mL previamente identificados numa quantidade de aproximadamente 200mg. Para cada amostra foi utilizada 700 µL de tampão de extração com a seguinte constituição: 2% (v/v) de CTAB (brometo de cetil-trimetilamônio), 1,4 mol/L de NaCl₂ (cloreto de sódio), 20 mmol/L de EDTA (ácido etilenodiamino tetra-acético), 100 mmol/L de Tris-HCl (trisaminometano) a pH 8,0; 2% p/v de Polivinilpirrolidona sólida e 0,2% (v/v) de β-mercaptoetanol. Posteriormente a mistura (tampão e amostra) foi homogeneizada no vórtex por aproximadamente 20 segundos e incubada em banho-maria a 65°C por 30 minutos, com agitação ocasional a cada 10 minutos. Em seguida, as amostras foram mergulhadas em gelo para que retornassem a temperatura ambiente.

Foram adicionados às amostras 650 µL da mistura de clorofórmio: álcool isoamílico (CIA) (24:1) que foram homogeneizadas por inversões e centrifugadas por 10 minutos a 1.200 rpm. O sobrenadante foi transferido para novos microtubos e repetiu-se a etapa de extração com CIA e centrifugação. Em seguida, a fase superior foi transferida para novos tubos aos quais adicionou-se 0,7 volume de isopropanol gelado. Os tubos foram agitados suavemente algumas vezes. Centrifugou-se novamente por 10 minutos a 1.200 rpm. Após esta etapa, o precipitado foi então lavado uma vez com álcool 70%, centrifugado por 3 minutos a 1.200 rpm, e removido o sobrenadante. O precipitado foi lavado mais uma vez com etanol 95%, seco à temperatura ambiente. Este precipitado foi ressuspenso em 100

μL de TE (10 mmol/L de Tris-HCl, 1mmol/L de EDTA a pH 8.0), contendo RNase na concentração final de 40 $\mu\text{g}/\text{mL}$ e incubado em banho-maria a 37 °C por 30 minutos, posteriormente as amostras foram armazenadas a -30°C.

Após a extração, a integridade do DNA das amostras foi verificada por eletroforese em gel de agarose 0,8% (p/v) contendo brometo de etídio, imerso TBE 1X (Tris-Base, Ácido Bórico e EDTA). A quantificação e a pureza foram estimadas em NanoDrop (Thermo Scientific 2000C). E em seguida, as amostras foram diluídas em TE (10 mM Tris- HCl e 1 mM EDTA em pH 8); para atingir a concentração final de 10 $\text{ng } \mu\text{L}^{-1}$.

3.6.2 Análises dos Iniciadores ISSR

Um total de 41 iniciadores ISSR (Tabela 5) foram testados em três amostras de DNA de *P. vulgaris*. Destes, nove apresentaram polimorfismo e foram selecionados e amplificados nos demais genótipos através da técnica PCR e os demais iniciadores foram descartados, pois não houve uma eficiente produção de bandas.

As reações de amplificação foram feitas no termociclador *Applied Biosystems* (modelo Veriti) em um volume final de 20 μL , contendo: 50ng de DNA genômico; 0,77 mM de dNTP, 1,15X de Tampão 10 (Phoneutria) (100 mM Tris- HCl; 500 mM KCl; 1% de triton X-100; 1,5 mM MgCl_2 pH 8,3); 1,15 μM de cada iniciador, 1,92 mM de MgCl_2 e 1,25 U de Taq DNA polimerase (Phoneutria). As condições de amplificação estão descritas na Tabela 5.

Tabela 5 - Sequência dos 41 iniciadores ISSR testados

Iniciador	Sequência no sentido 5'3'
UBC 802	ATA TAT ATA TAT ATA TG
UBC 807	AGA GAG AGA GAG AGA GT
UBC 808	AGA GAG AGA GAG AGA GC
UBC 809	AGA GAG AGA GAG AGA GG
UBC 810	GAG AGA GAG AGA GAG AT
UBC 811	GAG AGA GAG AGA GAG AC
UBC 813	CTC TCT CTC TCT CTC TT

(continua)

Tabela 5 - Sequência dos 41 Iniciadores ISSR testados

(conclusão)

Iniciador	Sequência no sentido 5'3'
UBC 814	CTC TCT CTC TCT CTC TA
UBC 815	CTC TCT CTC TCT CTC TG
UBC 816	CAC ACA CAC ACA CAC AT
UBC 822	TCT CTC TCT CTC TCT CA
UBC 824	TCT CTC TCT CTC TCT CG
UBC 825	ACA CAC ACA CAC ACA CT
UBC 827	ACA CAC ACA CAC ACA CG
UBC 828	TGT GTG TGT GTG TGT GA
UBC 833	ATA TAT ATA TAT ATA TYG
UBC 834	AGA GAG AGA GAG AGA GYT
UBC 836	AGA GAG AGA GAG AGA GYA
UBC 838	TAT ATA TAT ATA TAT ARC
UBC 840	GAG AGA GAG AGA GAG AYT
UBC 842	GAG AGA GAG AGA GAG AYG
UBC 844	CTC TCT CTC TCT CTC TRC
UBC 849	GTG TGT GTG TGT GTG TYA TCC A
UBC 859	TGT GTG TGT GTG TGT GRC
UBC 861	ACC ACC ACC ACC ACC ACC
UBC 862	AGC AGC AGC AGC AGC AGC
UBC 864	ATG ATG ATG ATG ATG ATG
UBC 866	CTC CTC CTC CTC CTC CTC
UBC 867	GGC GGC GGC GGC GGC GGC
UBC 869	GTT GTT GTT GTT GTT GTT
UBC 870	TGC TGC TGC TGC TGC TGC
UBC 874	CCC TCC CTC CCT CCC T
UBC 875	CTA GCT AGC TAG CTA G
UBC 878	GGA TGG ATG GAT GGA T
UBC 880	GGA GAG GAG AGG AGA
UBC 884	HBH AGA GAG AGA GAG AG
UBC 886	VDV CTC TCT CTC TCT CT
UBC 887	DVD TCT CTC TCT CTC TC
UBC 890	VHV GTG TGT GTG TGT GT
UBC 891	HVH TGT GTG TGT GTG TG
UBC 896	AGG TCG CGG CCG CNN NNN NAT G

*Y= (C, T); R= (A, G); H= (A, C, T); B= (C, G, T); V = (A, C, G); D = (A, G, T); N= (A, C, G, T).

O programa utilizado para a PCR foi: desnaturação inicial de 94°C por 5 minutos, seguida de 40 ciclos, sendo cada ciclo composto por três etapas: a) 94°C (desnaturação) por 1 minuto, b) 50°C (anelamento) por 1 minuto e c) extensão de 72°C por 2 minutos, com extensão final de 72°C por 10 minutos.

Os produtos de PCR foram separados por eletroforese horizontal em gel de agarose 1,5% (p/v), imerso em tampão TBE 1X, a 100 Volts por cerca de 5 horas. Após a corrida eletroforética o gel foi submetido a um banho de brometo de etídio ($6 \mu\text{g mL}^{-1}$), durante 20 minutos. Posteriormente o gel foi fotografado sob luz ultravioleta e os fragmentos de DNA visualizados com o sistema de fotodocumentação *Image Lab*TM (Bio-Rad, Brasil). Todas as etapas foram realizadas no Laboratório de Genética e Melhoramento de Plantas da Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Agrárias e Engenharias.

3.6.3 Análise dos Dados Moleculares

Os géis foram analisados por meio do software *Image Lab*TM. A leitura das informações contidas nos géis possibilitou a geração de uma matriz binária, onde para presença de banda atribui-se valor igual a 1 e para ausência 0, sendo consideradas apenas bandas evidentes. Para dados perdidos atribui-se valor igual a 2. Posteriormente, foi realizada uma análise descritiva dos dados, envolvendo número total de bandas (NTB), número de bandas polimórficas (NBP), porcentagem de bandas polimórficas (PBP).

Os valores de similaridade genética entre indivíduos foram estimados utilizando-se o coeficiente de Jaccard, que posteriormente foram organizadas em matrizes, para serem empregadas na análise de agrupamento pela ligação média entre grupos (UPGMA - *unweighted pair-group method using arithmetic averages*). E utilizando o método de Mojena (1977), cuja a fórmula é descrita como $P_c = m + kD_p$, sendo $m =$ a média dos valores de distância dos níveis de fusão correspondentes aos estágios; $k = 2,0$; $D_p =$ desvio padrão, pôde-se chegar ao ponto de corte recomendado no dendrograma.

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 discordância 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

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

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.

Com a formação do dendrograma pode haver distorções entre cultivares estudados e ocorrer simplificação das informações originais (CRUZ; CARNEIRO, 2006). Por essa razão, após a obtenção do dendrograma a consistência do agrupamento foi avaliada estimando-se o coeficiente de correlação cofenética (CCC).

A estimativa do CCC foi realizada utilizando os coeficientes de semelhança do dendrograma para gerar uma nova matriz de dissimilaridade, denominada matriz de coeficientes de similaridade cofenéticos. O coeficiente de correlação cofenética foi então estabelecido a partir da correlação linear de Pearson entre os elementos da matriz cofenética e os elementos da matriz de dissimilaridade (CARGNELUTTI FILHO; RIBEIRO; BURIN, 2010).

As análises de divergência genética, de agrupamento, ponto de corte, segundo Mojena (1977) e coeficiente de correlação cofenética foram realizadas com o auxílio do programa Genes (CRUZ, 2013).

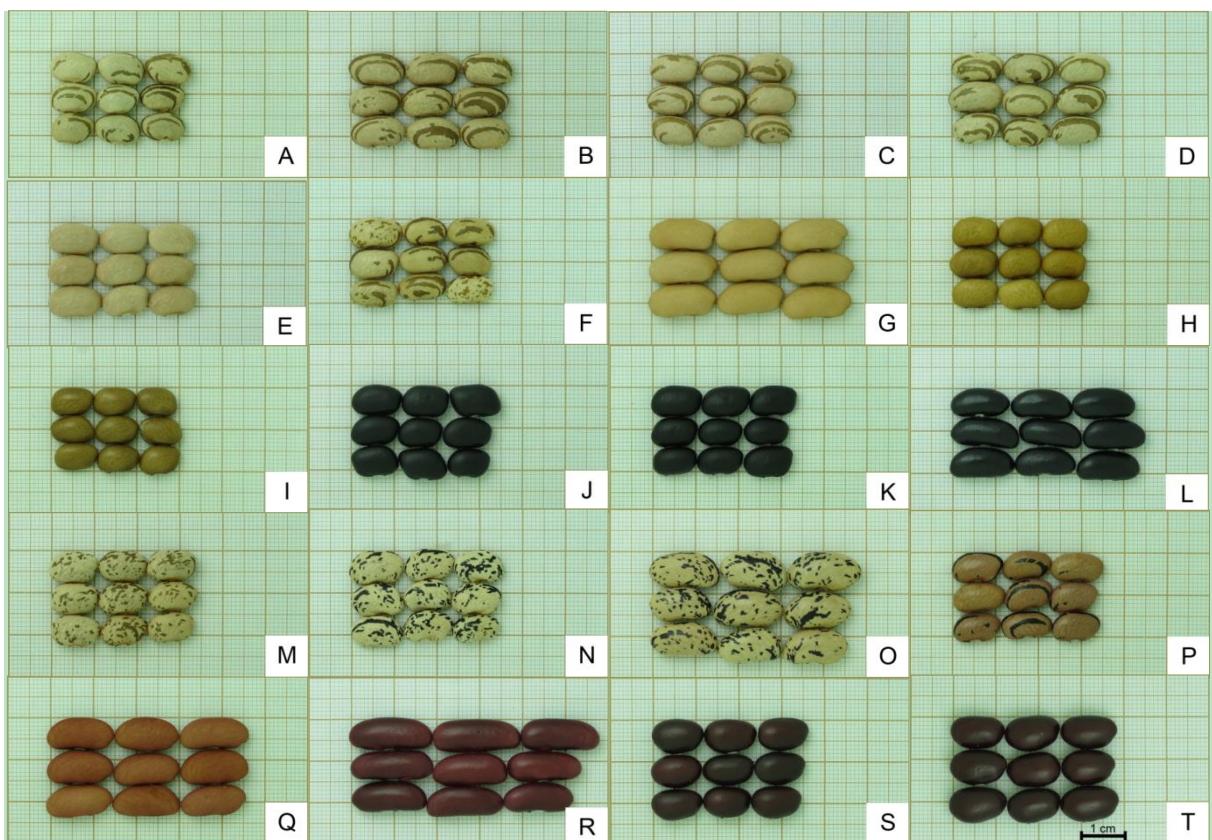
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O teor de água das sementes entre os vinte genótipos variou de 10,2 a 11,3 % (Tabela 1). O teor de água não apresentou correlação com nenhuma outra variável analisada (dados não apresentados), por isso não foi utilizado nas análises.

3.1 CARACTERIZAÇÃO MORFOAGRONÔMICA

Foi constatada uma elevada variabilidade fenotípica para os grãos de feijoeiro, quanto ao tamanho, forma e cor (Figura 3).

Figura 3– Forma, tamanho e cor dos grãos regionais e comerciais de feijoeiro do banco de germoplasma do Departamento de Produção Vegetal do Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo



A: BRS Pontal; B: BRS Pérola; C: BRS Ametista; D: BRS Estilo; E: BRS Agreste; F: Carioca Comum; G: Manteigão; H: Mulatinho; I: Mulato; J: Preto 90 dias; K: Preto ; L: Preto Jalo; M: Carioca Pintadinho; N: Carioca Preto; O: Corujinha; P: Rosinha Carioca; Q: Mulato Manteigão; R: Amendoim; S: Vermelho 1; T: Vermelho 2

Fonte: Acervo pessoal da autora.

Dentre os 20 genótipos, três possuem grãos de cor preta (Preto 90 dias, Preto e Preto Jalo); dez de coloração bege -uniforme (BRS Agreste e Manteigão) ou com pequenas manchas pretas (Carioca Preto e Corujinha) ou pequenas manchas marrons (Carioca Pintadinho) ou estrias marrons (BRS Pontal, BRS Pérola, BRS Ametista, BRS Estilo, BRS Agreste e Carioca Comum); duas pardo-claro (Mulatinho e Mulato); três de cor vermelha à vinho escura (Amendoim, Vermelho 1 e Vermelho 2), um rosa com estrias pretas (Rosinha Carioca) e um de cor marrom-avermelhado (Mulato Manteigão).

A grande variabilidade apresentada pelas características externas da semente tem sido usada para diferenciar e classificar cultivares de feijão em grupos comerciais distintos, principalmente, a cor e o tamanho da semente (VIEIRA, 2006; VILHORDO et al., 1996).

O conhecimento da variabilidade genética presente em Bancos de Germoplasma é importante, pois são repositórios de material genético de uso imediato ou com potencial de uso futuro. Tal variabilidade é indispensável, considerando-a como fonte de genes de interesse, pois permite a obtenção, via melhoramento genético, de variedades mais produtivas, resistentes e adaptadas aos mais diferentes ambientes (SILVA, 2011).

Verificou-se que houve diferença entre os 20 genótipos de feijoeiro para todos os caracteres morfoagronômicos avaliados (Tabela 6), indicando a presença de variabilidade genética entre os genótipos estudados, sendo possível selecionar aqueles com características desejáveis para o pré-melhoramento.

Tabela 6 - Características morfoagronômicas avaliadas nos genótipos comerciais e regionais de feijoeiro do Departamento de Produção Vegetal do Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo

(continua)

Genótipos	PAC	PAH	Tipo de planta	PACA	ICL (cm)	Rugosidade na folha	Cor da flor (uniformidade)	Cor da asa	Cor do estandarte
BRS Pontal	Ausente	Ausente	P.i. – III	Ausente	0,33	Presente	Uniforme	Branca	Branca
BRS Pérola	Ausente	Ausente	A.i. – II	Ausente	0,40	Presente	Uniforme	Branca	Branca
BRS Ametista	Ausente	Ausente	P.i. – III	Ausente	0,49	Ausente	Uniforme	Branca	Branca
BRS Estilo	Ausente	Ausente	A.i. – II	Ausente	0,48	Presente	Uniforme	Branca	Branca
BRS Agreste	Ausente	Ausente	A.i. – II	Ausente	0,52	Presente	Uniforme	Branca	Branca
Carioca comum	Ausente	Ausente	P.i. – III	Ausente	0,52	Presente	Uniforme	Branca	Branca
Manteigão	Ausente	Ausente	A.d. – I	Ausente	0,53	Presente	Uniforme	Rosa	Rosa
Mulatinho	Ausente	Ausente	A.i. – II	Ausente	0,38	Presente	Uniforme	Branca	Branca
Mulato	Ausente	Ausente	P.i. – III	Ausente	0,39	Presente	Uniforme	Branca	Branca
Preto 90 dias	Presente	Presente	A.i. – II	Presente	0,36	Presente	Uniforme	Roxa	Roxa
Preto	Presente	Presente	A.i. – II	Presente	0,36	Presente	Uniforme	Roxa	Roxa
Preto Jalo	Presente	Presente	A.d. – I	Presente	0,48	Presente	Uniforme	Roxa	Roxa
Carioca Pintadinho	Ausente	Ausente	A.d. – I	Ausente	0,49	Presente	Uniforme	Branca	Branca
Carioca Preto	Presente	Presente	A.d. – I	Presente	0,38	Presente	Uniforme	Roxa	Roxa
Corujinha	Ausente	Ausente	A.d. – I	Ausente	0,51	Presente	Uniforme	Roxa	Roxa
Rosinha Carioca	Presente	Presente	A.d. – I	Presente	0,54	Presente	Uniforme	Roxa	Roxa
Mulato Manteigão	Ausente	Ausente	A.i. – II	Ausente	0,39	Presente	Uniforme	Rosa	Rosa
Amendoim	Ausente	Ausente	A.i. – II	Ausente	0,41	Presente	Uniforme	Rosa	Rosa
Vermelho 1	Ausente	Ausente	A.i. – II	Ausente	0,41	Presente	Uniforme	Rosa	Rosa
Vermelho 2	Ausente	Ausente	A.i. – II	Ausente	0,48	Presente	Uniforme	Rosa	Rosa

*PAC= Presença de antocianina nos cotilédones; PAH= Presença de antocianina no hipocótilo; PACA= Presença de antocianina no caule; ICL= Índice comprimento/largura da folha. A.d. – I= Arbustivo, determinado - I; A.i. – II= Arbustivo, indeterminado - II; P.i. – III= Prostrado, indeterminado – III.

Tabela 6 - Características morfoagronômicas avaliadas nos genótipos comerciais e regionais de feijoeiro do Departamento de Produção Vegetal do Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo

(continua)

Genótipos	PIT	UCVF	CPV	TCS	Pilosidade da vagem	UCVC	Perfil da vagem	Ápice da vagem	FDA
BRS Pontal	NA	Uniforme	Verde	NA	Ausente	Uniforme	Semi-arqueado	Afilado	Arqueada
BRS Pérola	NA	Uniforme	Verde	NA	Ausente	Uniforme	Semi-arqueado	Afilado	Arqueada
BRS Ametista	NA	Uniforme	Verde	NA	Ausente	Uniforme	Recurvado	Afilado	Arqueada
BRS Estilo	NA	Uniforme	Verde	NA	Ausente	Uniforme	Semi-arqueado	Afilado	Arqueada
BRS Agreste	NA	Uniforme	Verde	NA	Ausente	Uniforme	Recurvado	Afilado	Arqueada
Carioca comum	NA	Desuniforme	Verde	Vermelho	Ausente	Uniforme	Semi-arqueado	Afilado	Arqueada
Manteigão	MC	Uniforme	Verde	NA	Presente	Uniforme	Semi-arqueado	Afilado	Arqueada
Mulatinho	NA	Uniforme	Verde	NA	Ausente	Uniforme	Semi-arqueado	Afilado	Arqueada
Mulato	NA	Uniforme	Verde	NA	Ausente	Uniforme	Reto	Afilado	Arqueada
Preto 90 dias	NA	Desuniforme	Verde	Roxo	Ausente	Desuniforme	Arqueado	Afilado	Arqueada
Preto	NA	Desuniforme	Verde	Roxo	Ausente	Uniforme	Semi-arqueado	Afilado	Arqueada
Preto Jalo	MC	Uniforme	Verde	NA	Presente	Uniforme	Arqueado	Afilado	Arqueada
Carioca Pintadinho	MC	Desuniforme	Verde	Vermelho	Presente	Desuniforme	Semi-arqueado	Afilado	Arqueada
Carioca Preto	MC	Desuniforme	Verde	Roxo	Ausente	Desuniforme	Semi-arqueado	Afilado	Arqueada
Corujinha	NC	Desuniforme	Verde	Roxo	Ausente	Desuniforme	Arqueado	Afilado	Arqueada
Rosinha Carioca	NC	Desuniforme	Verde	Roxo	Ausente	Desuniforme	Semi-arqueado	Afilado	Arqueada
Mulato Manteigão	NA	Uniforme	Verde	NA	Presente	Uniforme	Reto	Afilado	Reta
Amendoim	NA	Uniforme	Verde	NA	Presente	Uniforme	Arqueado	Afilado	Arqueada
Vermelho 1	NA	Uniforme	Verde	NA	Presente	Uniforme	Arqueado	Afilado	Arqueada
Vermelho 2	NA	Uniforme	Verde	NA	Presente	Uniforme	Arqueado	Afilado	Reta

*PIT= Posição da inflorescência terminal; UCVF= Uniformidade da cor da vagem na maturação fisiológica; CPV= Cor da primária vagem; TCS= Tom da cor secundária da vagem; UCVC= Uniformidade da cor da vagem na maturação de colheita; FDA= Forma do dente apical da vagem. NA= não se aplica; MC= em meio à cobertura; NC= ao nível da cobertura.

Tabela 6 - Características morfoagronômicas avaliadas nos genótipos comerciais e regionais de feijoeiro do Departamento de Produção Vegetal do Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo

									(conclusão)
Genótipos	PDA	Cor da semente (uniformidade)	Peso de 1000 sementes (g)	J	H	Brilho da semente	Halo na semente (presença)	Cor do halo da semente	Grupo comercial
BRS Pontal	Marginal	Desuniforme	221,69	Elíptica	Achatada	Opaco	Presente	CD	Carioca
BRS Pérola	Marginal	Desuniforme	291,87	Elíptica	Semi-cheia	Opaco	Presente	CD	Carioca
BRS Ametista	Marginal	Desuniforme	251,19	Elíptica	Cheia	Opaco	Presente	CD	Carioca
BRS Estilo	Marginal	Desuniforme	287,56	Elíptica	Semi-cheia	Opaco	Presente	CD	Carioca
BRS Agreste	Marginal	Uniforme	224,57	Elíptica	Semi-cheia	Opaco	Presente	CD	Outros
Carioca comum	Marginal	Desuniforme	251,64	O/RC	Semi-cheia	Opaco	Presente	CD	Carioca
Manteigão	Marginal	Uniforme	396,26	O/RL	Cheia	Opaco	Presente	CD	Jalo
Mulatinho	Marginal	Uniforme	254,57	Elíptica	Achatada	Intermediário	Presente	CD	Mulatinho
Mulato	Marginal	Uniforme	184,69	Elíptica	Semi-cheia	Brilhoso	Presente	CD	Mulatinho
Preto 90 dias	Marginal	Uniforme	215,15	Elíptica	Semi-cheia	Opaco	Presente	MC	Preto
Preto	Marginal	Uniforme	235,72	Elíptica	Semi-cheia	Intermediário	Presente	MC	Preto
Preto Jalo	Não marginal	Uniforme	335,15	O/RL	Cheia	Brilhoso	Presente	MC	Preto
Carioca Pintadinho	Marginal	Desuniforme	253,30	Elíptica	Cheia	Opaco	Presente	CD	Carioca
Carioca Preto	Marginal	Desuniforme	247,81	O/RC	Achatada	Opaco	Presente	CD	Carioca
Corujinha	Não marginal	Desuniforme	427,29	O/RM	Cheia	Intermediário	Presente	CD	Outros
Rosinha Carioca	Marginal	Desuniforme	205,17	O/RC	Semi-cheia	Brilhoso	Presente	CD	Outros
Mulato Manteigão	Marginal	Uniforme	291,51	O/RL	Cheia	Opaco	Presente	CD	Jalo
Amendoim	Não marginal	Uniforme	412,50	O/RL	Cheia	Brilhoso	Presente	MC	Outros
Vermelho 1	Marginal	Uniforme	348,73	Elíptica	Semi-cheia	Intermediário	Ausente	não se aplica	Outros
Vermelho 2	Marginal	Uniforme	358,61	Elíptica	Semi-cheia	Brilhoso	Ausente	não se aplica	Outros

*PDA: Posição do dente apical da vagem; J= Forma da semente - baseada nos conceitos do coeficiente J, segundo Puerta Romero (1961); H= Grau de achatamento da semente - baseada nos conceitos do coeficiente H, segundo Puerta Romero (1961). CD= cor diferente da semente; MC= mesma cor da semente; O/RC= Oblonga/reniforme curta; O/RM= Oblonga/reniforme média; O/RL= Oblonga/reniforme longa. Fonte: Adaptado de Alves (2015).

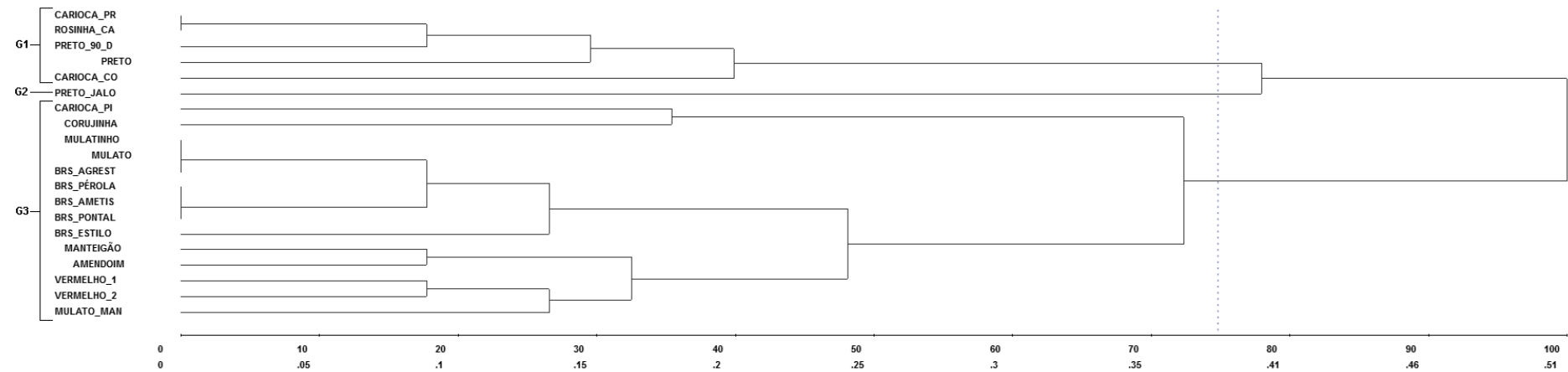
Nos genótipos analisados, todos apresentaram a cor da flor uniforme, ápice da vagem afilado e cor primária da vagem verde, na maturação fisiológica. E por estes três descritores terem sido monomórficos, não foram eficientes para estimar a divergência genética. Rodrigues et al. (2002) trabalhando com genótipos regionais e cultivares melhoradas de feijão concluíram que cor da flor (uniformidade) e ápice da vagem são variáveis de menor importância para o estudo da divergência genética entre os genótipos.

Quanto aos descritores de caráter qualitativo, BRS Pérola e BRS Estilo foram os genótipos mais próximos dentre os 20 genótipos avaliados, apresentaram diferença apenas quanto à presença de antocianina no caule (PACA). Os parentais, que originaram essas cultivares comerciais podem ser próximos geneticamente. E dentre os genótipos regionais, Carioca Preto e Rosinha Carioca foram os genótipos mais similares, quanto aos caracteres qualitativos, diferiram-se apenas quanto à posição da inflorescência terminal (PIT) e brilho da semente. A similaridade entre genótipos regionais pode ser consequência de cruzamentos naturais, decorridos ao longo de anos entre genótipos que possivelmente foram cultivados próximos.

Carioca Preto e Vermelho 2 foram os genótipos mais dissimilares quanto aos caracteres qualitativos, apresentaram dissimilaridade em 20 dentre os 27 caracteres descritos na Tabela 6, o que representa 74,07% de dissimilaridade quanto aos caracteres qualitativos avaliados.

Os dados de similaridade ou dissimilaridade quanto aos caracteres qualitativos estão de acordo com as análises por marcadores moleculares, onde através do agrupamento UPGMA (Figura 4), os genótipos mais próximos (BRS Pérola e BRS Estilo; Carioca Preto e Rosinha Carioca), ficaram no mesmo grupo (G1), e os mais distantes (Carioca Preto e Vermelho 2) foram agrupados em diferentes grupos (G1 e G2, sucessivamente). Isto remete que os descritores morfológicos podem ser úteis para estimar a divergência genética entre acessos.

Figura 4 - Dendrograma obtido por meio de caracteres qualitativos binários com a Coincidência Simples utilizando o método de agrupamento UPGMA, para os genótipos de feijoeiro do Departamento de Produção Vegetal do Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo



*G 1, G2 e G3 são os 3 grupos formados
 Fonte: Acervo pessoal da autora.

A antocianina (coloração) nos cotilédones, hipocótilo e no caule que é encontrada principalmente em feijões do grupo comercial preto e é refletida também na coloração roxa das flores, foi observada nos 3 genótipos do grupo comercial preto (Preto 90 dias, Preto e Preto Jalo) e também nos genótipos Carioca Preto e Rosinha Carioca. Estes genótipos também foram os únicos que apresentaram a cor roxa para a asa e estandarte. Possivelmente os ancestrais que deram origem aos genótipos Carioca Preto e Rosinha Carioca pertenciam ao grupo comercial preto.

A antocianina confere vantagem adaptativa ao genótipo, pois está ligada a atração de insetos polinizadores e de animais dispersores de sementes, e pode também estar envolvida na resistência a doenças (BRASIL, 2010).

A maioria dos genótipos estudados é de hábito de crescimento Tipo II (50%) e do grupo carioca (35%). O desenvolvimento de cultivares de hábito de crescimento de tipo I ou tipo II tem despertado o interesse da pesquisa, principalmente para atender produtores que utilizam alta tecnologia, como a colheita mecanizada (QUEIROGA et al., 2003).

O índice comprimento/largura da folha (ICL) variou de 0,33 à 0,54cm, para os genótipos BRS Pontal e Rosinha Carioca. Para comprimento e para largura, cada genótipo apresentou valores únicos, contudo alguns genótipos apresentaram valores idênticos quanto ao ICL.

Apenas a cultivar BRS Pérola não apresentou rugosidade na folha, sendo assim este descritor contribuiu sobretudo para diferenciá-lo dos demais genótipos quanto esta característica.

O descritor tom da cor secundária da vagem foi observado apenas nos genótipos que apresentavam vagem bicolor, que são: Carioca Comum, Preto 90 dias, Preto, Carioca Pintadinho, Carioca Preto, Corujinha e Rosinha Carioca.

A pilosidade da vagem possui importância quanto à defesa ao ataque de insetos (quando presente nas vagens) e torna a colheita manual das vagens mais

confortável (VIEIRA; OLIVEIRA; VIEIRA, 2003). Esta característica foi observada apenas para os genótipos Manteigão, Preto Jalo, Carioca Pintadinho, Mulato Manteigão, Amendoim, Vermelho 1 e Vermelho 2.

Os valores para o descritor peso de 1000 sementes variaram entre 184,69, para o genótipo Mulato e 396,26, para o Manteigão. Que está diretamente ligado ao comprimento do grão, onde o genótipo Mulato foi o que apresentou o menor valor para o comprimento de grão (9,74mm) e Manteigão o maior valor (15,62mm).

Quanto à forma e grau de achatamento da semente, prevaleceram à forma Elíptica (para 12 genótipos) e grau de achatamento Semi-cheio (para 10 genótipos). As sementes com forma elíptica e com padrão de achatamento semi-cheio tem maior aceitação pelos consumidores de feijão carioca e preto no Brasil (CARBONELL et al., 2010). Preto 90 dias e Preto são genótipos regionais que pertencem ao grupo comercial preto e possuem ambas características.

Além dos genótipos comerciais (BRS Pontal, BRS Pérola, BRS Ametista, BRS Estilo, BRS Agreste), os genótipos regionais que apresentaram a característica Opaco para o descritor Brilho da semente foram: Carioca Comum, Manteigão, Preto 90 dias, Carioca Pintadinho, Carioca Preto e Mulato Manteigão. Possivelmente os grãos destes genótipos apresentam tempo de cozimento reduzido, pois feijões opacos absorvem mais água que feijões brilhantes, de forma que o tegumento está diretamente envolvido na absorção de água e conseqüentemente influenciará no tempo de cozimento (BUSHEY; OWENS; HOSFIELD, 2002). A aceitabilidade do consumidor está relacionada à qualidade das propriedades do feijão, como cozimento rápido (PAULA, 2004).

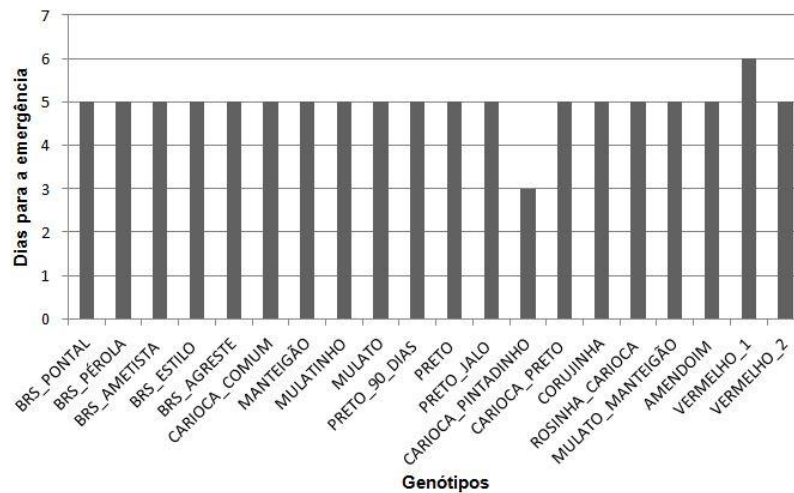
O genótipo Preto 90 dias apresentou grãos opacos com a forma elíptica e grau de achatamento semi-cheio, características desejáveis comercialmente. Este genótipo tem chance de ser bem aceito pelos consumidores que preferem o grão do tipo comercial preto.

O halo na semente apenas não foi observado nos genótipos Vermelho 1 e Vermelho 2. Esta característica os aproxima morfologicamente, e os distancia dos demais.

O halo da mesma cor da semente foi observado apenas nos genótipos do grupo comercial preto: Preto 90 dias, Preto e Preto Jalo, e também no genótipo Amendoim, do grupo outros.

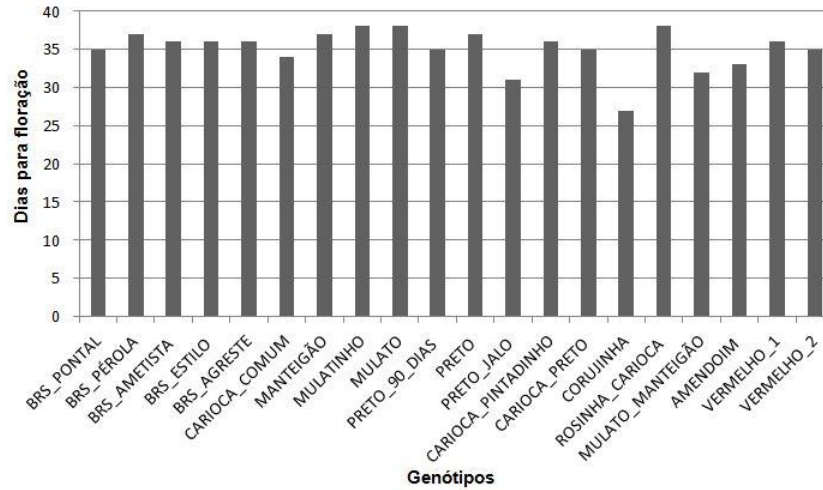
Os Gráficos 1 e 2 mostram a variação de dias para a emergência e dias para a floração entre os genótipos.

Gráfico 1 - Dias para a emergência dos genótipos de feijoeiro do Departamento de Produção Vegetal do Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo



Fonte: Elaborado pela autora.

Gráfico 2 - Dias para a floração dos genótipos de feijoeiro do Departamento de Produção Vegetal do Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo



Fonte: Elaborado pela autora.

Número de dias para a emergência (Gráfico 1) foi um descritor basicamente uniforme, ou seja teve pouca variação entre os genótipos, onde apenas Carioca Pintadinho (3 dias) e Vermelho 1 (6 dias) apresentaram variação entre os demais genótipos (5 dias). O número médio de dias para a floração entre os genótipos foi de 35 dias, contados a partir da data do plantio.

Em Dias para a floração (Gráfico 2) ocorreu considerável variação no conjunto dos 20 genótipos, de 27 dias, para Corujinha até 38 dias, para Mulatinho, Mulato e Rosinha Carioca. Estudando a diversidade genética, integrando a caracterização morfológica e molecular em feijão-fava, Silva (2011) concluiu que número de dias para a floração foi um descritor que contribuiu sobremaneira para a diversidade.

3.1.1 Análise da Diversidade Genética Utilizando Variáveis Morfológicas

A menor dissimilaridade (0,00) foi observada entre os genótipos Carioca Preto e Rosinha Carioca; Mulatinho, Mulato e BRS Agreste; BRS Peróla, BRS Ametista e BRS Pontal. E a maior dissimilaridade (0,81) foi encontrada entre o genótipo Vermelho 2, Carioca Preto e Rosinha Carioca.

Na Figura 4, apresenta-se o dendrograma obtido por meio dos 11 caracteres qualitativos binários, pela Coincidência Simples, utilizando o método de agrupamento UPGMA. Nesse sentido, a formação de 3 grupos, a partir do corte no dendrograma, é mostrada na Tabela 7.

Tabela 7 - Grupos dos genótipos de feijoeiro do Departamento de Produção Vegetal do Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo, a partir do dendrograma obtido através de dados qualitativos binários com a Coincidência Simples e o método de agrupamento UPGMA

Grupo	Genótipos
G1	Carioca Preto, Rosinha Carioca, Preto 90 dias, Preto e Carioca Comum
G2	Preto Jalo
G3	Carioca Pintadinho, Corujinha, Mulatinho, Mulato, BRS Agreste, BRS Pérola, BRS Ametista, BRS Pontal, BRS Estilo, Manteigão, Amendoim, Vermelho 1, Vermelho 2 e Mulato Manteigão

Fonte: Elaborado pela autora.

No Grupo G1 observam-se apenas cinco genótipos, sendo que Carioca Preto foi considerado igual ao genótipo Rosinha Carioca. Todos os genótipos desse grupo apresentaram antocianina nos cotilédones, rugosidade da folha, flores de coloração uniforme, vagem de cor desuniforme, ápice da vagem afilado, dente apical da vagem com forma arqueada e posição marginal e presença de halo na semente.

O genótipo Preto Jalo compõe o Grupo G2, e se manteve em um grupo distinto, tal como nas análises por iniciadores ISSR. Ele se distingue dos genótipos do Grupo G1 pela coloração uniforme da vagem na maturação fisiológica e na maturação de colheita e também por apresentar dente apical da vagem de posição não marginal.

O Grupo G3 é formado pelos demais genótipos. Observa-se que todos os genótipos comerciais estão contidos neste mesmo grupo, e esta tendência de agrupamento também foi observada nas análises moleculares.

Ainda no Grupo G3, vale ressaltar que as cultivares comerciais que demonstraram a mais baixa dissimilaridade (0,00) entre elas foram BRS Peróla, BRS Ametista e BRS Pontal, sendo consideradas iguais. E os genótipos Mulatinho e Mulato também foram considerados iguais a cultivar BRS Agreste.

A constatação de duplicatas pode ter ocorrido pela análise de apenas 11 variáveis morfológicas. Pois de acordo com as análises moleculares e pelo fenótipo apresentado em campo, os 20 genótipos são únicos.

Mais testes ou outros marcadores morfológicos podem ser avaliados para se buscar uma análise mais refinada da variabilidade genética dos genótipos deste estudo, entretanto, como são incipientes os trabalhos referentes às características morfológicas de *P. vulgaris*, os resultados aqui obtidos, colaboram para o programa de melhoramento da espécie.

3.2 ANÁLISE DA CONVIVÊNCIA COM TRAPOERABA

Verifica-se que não houve diferença entre diâmetro do caule e número de vagens por planta (Tabela 8). As plantas cultivadas em convivência com planta daninha apresentou maiores médias para maioria das características analisadas, o que pode ser em consequência do plantio do feijoeiro ter sido realizado junto ao plantio da trapoeraba.

As médias superiores ocorreram para as plantas cultivadas sem a interação da planta daninha apenas para número de vagens por planta. Oliveira, Constantin e Inoue (2011) afirmam que restrições dos fatores ambientais causados pela convivência das plantas daninhas com a cultura podem causar diminuição do número de vagens em algum momento da fase reprodutiva da planta.

As plantas submetidas à convivência com trapoeraba apresentaram maior comprimento da planta. Este aumento da altura das plantas representa um fator de busca de adaptação à competição futura com plantas vizinhas e assemelha-se aos

efeitos do estiolamento das plantas (MEROTTO JUNIOR et al., 2002; CURY et al., 2013).

Tabela 8 - Diâmetro do caule, comprimento da planta e número de vagens por planta de genótipos de feijoeiro com interação ou não de trapoeraba.

Ambiente	Diâmetro do caule (mm)	Comprimento da planta (cm)	Número de vagens
Sem trapoeraba	4.31a	123.36 b	11.65 a
Com trapoeraba	4.32 a	132.37 a	11.18 a
C.V %	6.39	14.22	19.73

*Médias seguidas por mesma letra na coluna, não diferem entre si pelo teste de F ($p < 0,05$)

Fonte: Elaborado pela autora.

O genótipo Preto foi o que apresentou maior diâmetro do caule, enquanto Rosinha carioca e vermelho 2 apresentaram menores diâmetros (Tabela 9). Este resultado demonstra que a convivência do feijoeiro com a trapoeraba pode alterar o crescimento da cultura em termos de diâmetro. Os genótipos que apresentaram maiores e menores médias para diâmetros pertencem a grupos diferentes, conforme o dendrograma (Figura 6).

Era de se esperar que o diâmetro do caule das plantas que conviveram com as plantas daninhas fosse menor do que as plantas sem a convivência. Isso pode ter ocorrido em função da baixa densidade de plantas daninhas x densidade do feijoeiro, que possibilitou o desenvolvimento do feijoeiro ou, pela tolerância do feijoeiro à convivência durante o período avaliado.

A média do comprimento de planta variou de 164,80 para o genótipo BRS Pontal à 57,20 para genótipo Corujinha (Tabela 9). Dentre os genótipos que apresentaram maior comprimento de planta, apenas os genótipos Vermelho 1 e Vermelho 2 são pertencentes ao grupo G2 (Figura 6). Os genótipos Corujinha e Mulato Manteigão, pertencentes ao grupo G2, apresentaram menor comprimento de planta.

Para o componente de produção número de vagens, as maiores médias encontradas foram nos genótipos Mulato (15,83), Preto 90 dias (14,50) e Rosinha Carioca (15,66), todos pertencentes ao grupo G1 (Figura 6).

Os genótipos que compõem o grupo G2, Manteigão, Corujinha, Mulato Manteigão, Amendoim, Vermelho 1 e Vermelho 2, apresentaram as menores médias (10,00; 8,66; 7,83; 9,66; 9,50 e 8,33), assim como os genótipos BRS Ametista (10,33) e Carioca Comum (10,33), do grupo G1 e Preto Jalo (10,66), do grupo G3. Esses resultados evidenciam a complexidade do caráter produtividade, que é o resultado da soma de todos os componentes do rendimento e não apenas o efeito isolado de um componente.

Tabela 9 - Diâmetro do caule, comprimento da planta, número de vagens por planta de 20 genótipos de feijoeiro sem interação de trapoeraba

Genótipos	Diâmetro do caule (mm)	Comprimento da planta (cm)	Número de vagens
BRS Pontal	4.13 c	164.80 a	11.66 b
BRS Pérola	4.46 b	155.60 a	12.66 b
BRS Ametista	4.51 b	109.43 b	10.33 c
BRS Estilo	4.28 c	125.21 b	12.50 b
BRS Agreste	4.52 b	156.60 a	12.33 b
Carioca comum	3.99 c	129.91 b	10.33 c
Manteigão	4.58 b	79.46 c	10.00 c
Mulatinho	4.61 b	141.91 b	11.50 b
Mulato	4.02 c	151.10 a	15.83 a
Preto 90 dias	4.83 b	137.98 b	14.50 a
Preto	5.39 a	140.95 b	12.50 b
Preto jalo	4.16 c	91.68 c	10.66 c
Carioca pintadinho	3.96 c	128.16 b	11.83 b
Carioca preto	3.99 c	137.02 b	12.00 b
Corujinha	4.38 b	57.20 d	8.66 c
Rosinha carioca	3.58 d	156.55 a	15.66 a
Mulato manteigão	4.53 b	57.96 d	7.83 c
Amendoim	4.39 b	139.70 b	9.66 c
Vermelho 1	4.08 c	151.27 a	9.50 c
Vermelho 2	3.84 d	144.86 a	8.33 c
CV%	6.39	14.22	19.73

*Médias seguidas por mesma letra na coluna, não diferem entre si pelo teste de F ($p < 0,05$)

Fonte: Elaborado pela autora.

As respostas encontradas quanto aos efeitos diretos dos componentes do rendimento na produtividade é um indicativo de que as cultivares precisam ser avaliadas em diferentes ambientes, a fim de se obter o conhecimento de como determinada cultivar responde quanto às características morfológicas e agrônômicas, além de mostrar o efeito compensatório dos componentes do rendimento na produtividade final de grãos (ZILIO et al., 2011).

O genótipo Carioca preto (grupo G1) quando cultivado sem convivência com trapoeraba apresentou maior média (13,55) para Peso total de sementes (Tabela 10) e o genótipo Manteigão (grupo G2) apresentou maior média (15,83) quando cultivado na presença de trapoeraba. As menores médias no cultivo sem trapoeraba e com trapoeraba foram dos genótipos Mulato Manteigão (8,18) e Rosinha carioca (7,93), sucessivamente.

Tabela 10 - Peso total de sementes, de genótipos de feijoeiro com interação ou não de trapoeraba

Genótipos	Sem trapoeraba	Com trapoeraba
BRS Pontal	9.41 bA	11.08 bA
BRS Pérola	10.43 bA	12.55 bA
BRS Ametista	9.79 bB	13.05 bA
BRS Estilo	11.35 aB	14.86 aA
BRS Agreste	8.99 bA	11.40 bA
Carioca comum	11.14 aA	8.62 cA
Manteigão	11.83 aB	15.83 aA
Mulatinho	11.10 aA	11.87 bA
Mulato	12.55 aA	13.84 aA
Preto 90 dias	12.21 aA	14.23 aA
Preto	11.21 aA	12.40 bA
Preto jalo	12.75 aA	12.68 bA
Carioca pintadinho	10.80 aA	11.92 bA
Carioca preto	13.55 aA	14.75 aA
Corujinha	9.23 bB	12.90 bA
Rosinha carioca	10.79 aA	7.93 cB
Mulato manteigão	8.18 bA	8.30 cA
Amendoim	10.34 bA	11.76 bA
Vermelho 1	9.16 bA	8.47 cA
Vermelho 2	9.70 bA	9.79 cA
CV%		12,91

Médias seguidas por mesma letra, minúsculas na coluna e maiúsculas na linha não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$)

Fonte: Elaborado pela autora.

Os genótipos BRS Ametista, BRS Estilo, Manteigão e Corujinha, cultivados com interação da trapoeraba, apresentaram as maiores médias em relação ao peso total de sementes. O peso total de sementes não foi totalmente afetado devido à baixa densidade da trapoeraba. Uma vez que continham duas plantas de feijão por vaso e apenas duas estirpes de trapoeraba foram plantadas.

3.3 ANÁLISE DE DIVERSIDADE GENÉTICA UTILIZANDO MARCADORES MOLECULARES ISSR

Os nove iniciadores ISSR selecionados estão listados na Tabela 12, bem como as informações quanto ao número total de bandas produzidas (NTB), número de bandas polimórficas (NBP) e porcentagem de bandas polimórficas (PBP). Dias et al. (2015) também utilizaram nove iniciadores ISSR para estimar a diversidade genética em genótipos de feijão-caupi.

Tabela 11 - Sequência dos iniciadores ISSR utilizados, número total de bandas produzidas (NTB), número de bandas polimórficas (NBP); porcentagem de bandas polimórficas (PBP)

Iniciador	Sequência no sentido 5'3'	NTB	NBP	PBP (%)
UBC 807	AGA GAG AGA GAG AGA GT	9	9	100
UBC 810	GAG AGA GAG AGA GAG AT	6	2	33,33
UBC 811	GAG AGA GAG AGA GAG AC	11	9	81,81
UBC 824	TCT CTC TCT CTC TCT CG	5	2	40
UBC 825	ACA CAC ACA CAC ACA CT	6	5	83,33
UBC 828	TGT GTG TGT GTG TGT GA	7	5	71,42
UBC 880	GGA GAG GAG AGG AGA	9	5	55,55
UBC 884	HBH AGA GAG AGA GAG AG	8	4	50
UBC 887	DVD TCT CTC TCT CTC TC	10	5	50

*Y= (C, T); H= (A, C, T); B= (C, G, T); V = (A, C, G); D = (A, G, T)

Fonte: Elaborado pela autora.

Os nove iniciadores utilizados produziram 71 bandas, destas 46 polimórficas, com média de 5,1 bandas polimórficas por iniciador, correspondendo a 64,78% de polimorfismo. Em diferentes trabalhos com marcadores dominantes (CHEN et al., 2006; CARVALHO et al., 2012), incluindo os ISSR, a porcentagem de locos polimórficos foi considerada como medida de diversidade genética.

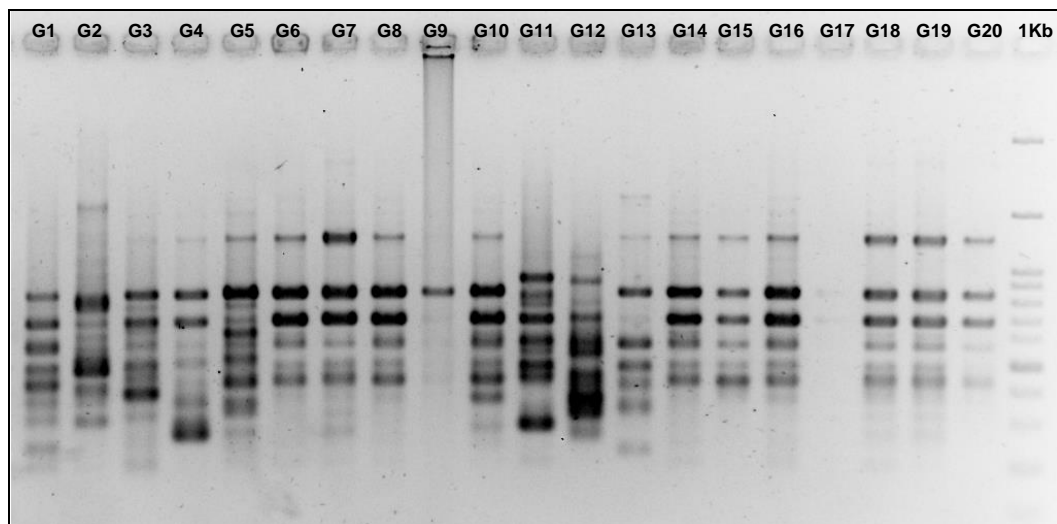
Estudando a variação genética em genótipos regionais de *Vigna umbellata* (Thunb.), Muthusamy, Kanagarajan e Ponnusamy (2008) utilizaram 37 iniciadores ISSR e obtiveram 296 bandas polimórficas, representando 61,79% de polimorfismo. Outros autores obtiveram valores maiores de polimorfismo, Moulin et al. (2013) trabalhando com a diversidade genética entre acessos de pimenta, utilizaram 11 ISSRs, que

amplificaram 96 bandas polimórficas, resultando em 66,66% de polimorfismo. Cabral (2010) obteve 76,4% de polimorfismo, no entanto o número médio de fragmentos polimórficos por iniciador (4,7) foi inferior ao obtido neste trabalho, este autor também afirma que essa diferença, na média de bandas polimórficas, pode ser devido ao descarte de bandas de intensidade fraca.

Uma série de bandas específicas foi encontrada para os diferentes genótipos, o que demonstra a alta diversidade genética encontrada em poder dos pequenos agricultores do sul do estado do Espírito Santo. Carvalho et al. (2008) relata que a manutenção da diversidade genética em poder dos pequenos agricultores pode ser de grande importância pela probabilidade de conterem alelos que conferem adaptação local, resistência a doenças e tolerância às principais adversidades edafoclimáticas da região.

O iniciador mais polimórfico foi o UBC 807 (Figura 5) que amplificou 9 bandas polimórficas, e por esta razão este iniciador pode ter sido útil para diferenciar todos os genótipos.

Figura 5 – Eletroforese em gel de agarose (1,5%) mostrando o perfil de PCR amplificado do iniciador 807 em *Phaseolus vulgaris*



*1Kb= Marcador de 100 pb; G1 a G20= Genótipos de *Phaseolus vulgaris*
 Fonte: Acervo pessoal da autora.

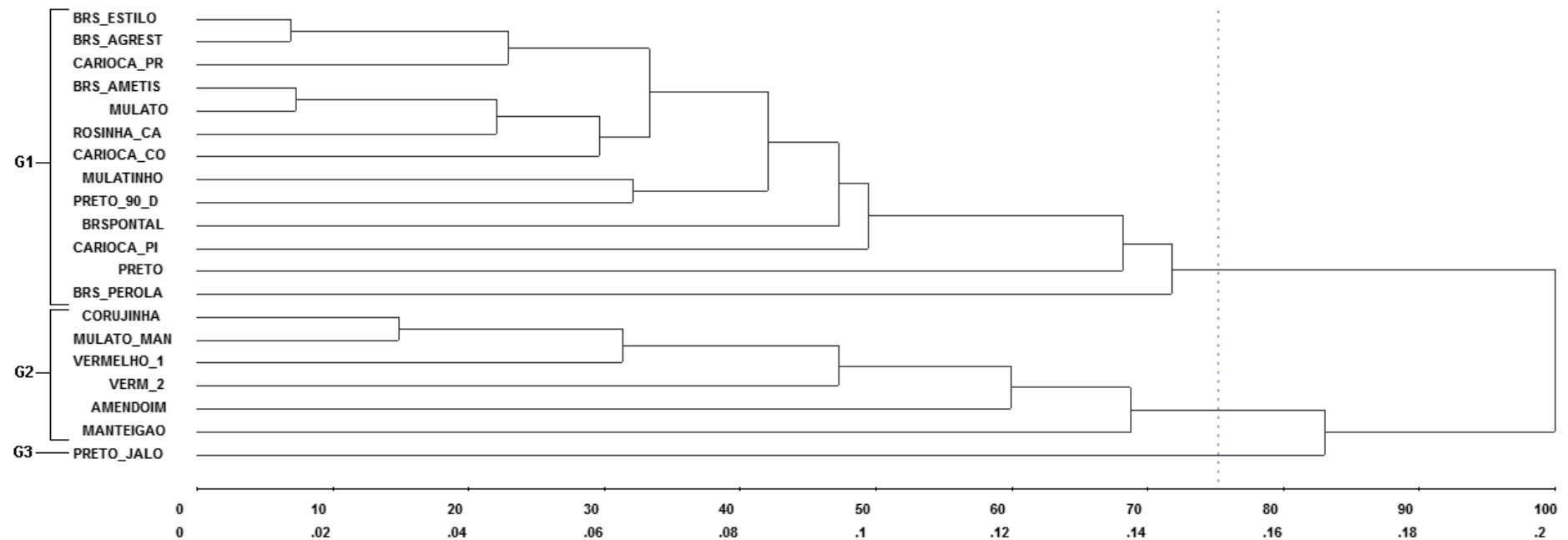
A dissimilaridade obtida para os 20 genótipos por meio da complementaridade do coeficiente de Jaccard baseado nos iniciadores ISSR, variou entre 0,01 e 0,30. A menor distância genética (0,01) foi entre os genótipos BRS Estilo e BRS Agreste e a maior distância genética (0,30) foi entre os genótipos BRS Pérola e Amendoim. Os dados de similaridade, ou dissimilaridade genética, podem ser úteis em programa de melhoramento genético, pois é um dos parâmetros utilizados na escolha de genitores para realização de cruzamentos (GUIMARÃES et al., 2007).

Todos os acessos foram considerados distintos, não sendo observadas duplicatas. A ocorrência de duplicatas não identificadas em bancos de germoplasma encarece e dificulta a manutenção do material, ocasionando problemas relacionados à organização e ao acesso de usuários potenciais ao recurso genético (GONÇALVES et al., 2008).

A partir da dissimilaridade entre os indivíduos foi gerado o agrupamento por UPGMA que revelou três grupos (Figura 6). Utilizando o método de Mojena (1977), pôde-se chegar ao ponto de corte recomendado de 76,36%. Assim, observou-se a formação de 3 grupos principais, demonstrados na Tabela 13.

Para confirmar a relação entre as medidas de dissimilaridade e as medidas gráficas formadas a partir do dendrograma foi obtido o coeficiente de correlação cofenética (CCC), que se mostrou favorável para este estudo, com valor de 85%. Essa estimativa indica que há alta confiabilidade na representação dos dados de dissimilaridade pelo dendrograma, pois valores de correlação cofenética superiores a 0,80 refletem um ajuste adequado (SOKAL; ROHLFE, 1995). Cabral (2010) analisando 57 genótipos de feijoeiro com 11 iniciadores ISSR obteve uma correlação cofenética com uma boa correspondência ao deste trabalho (CCC:0,83%).

Figura 6 - Dendrograma obtido por meio de iniciadores ISSR, com o complemento do coeficiente de similaridade de Jaccard e pelo método de agrupamento UPGMA, para os genótipos de feijoeiro do Departamento de Produção Vegetal do Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo



*G1, G2 e G3 são os 3 grupos formados

Fonte: Acervo pessoal da autora.

Tabela 12 - Agrupamento dos genótipos de feijoeiro do Departamento de Produção Vegetal do Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo, a partir do dendrograma obtido por meio de iniciadores ISSR, com o complemento do coeficiente de similaridade de Jaccard e pelo método de agrupamento UPGMA

Grupo	Genótipos
G1	BRS Estilo, BRS Agreste, Carioca Preto, BRS Ametista, Mulato, Rosinha Carioca, Carioca Comum, Mulatinho, Preto 90 dias, BRS Pontal, Carioca Pintadinho, Preto e BRS Pérola
G2	Corujinha, Mulato Manteigão, Vermelho 1, Vermelho 2, Amendoim e Manteigão
G3	Preto Jalo

Fonte: Elaborado pela autora.

Pelos grupos formados não se distinguem os acessos por grupo comercial e nem por tipo de planta.

A variável Peso médio de sementes, para os genótipos cultivados sem a presença da trapoeraba, Tabela 14, foi eficiente para discernir os genótipos pertencentes ao grupo G1, que apresentaram as menores médias (b). Apenas o genótipo Mulato Manteigão, que pertence ao grupo G2, também apresentou média inferior quanto ao peso médio de sementes. E com exceção deste, os demais genótipos que apresentaram as maiores médias (a) em relação ao Peso total de sementes foram agrupados nos grupos G2 e G3.

Tabela 13 - Peso médio de sementes

Genótipos	Peso médio de sementes
BRS Pontal	0.22 b
BRS Pérola	0.29 b
BRS Ametista	0.25 b
BRS Estilo	0.28 b
BRS Agreste	0.22 b
Carioca comum	0.25 b
Manteigão	0.39 a
Mulatinho	0.25 b
Mulato	0.18 b
Preto 90 dias	0.21 b
Preto	0.23 b
Preto jalo	0.39 a
Carioca pintadinho	0.25 b
Carioca preto	0.24 b
Corujinha	0.42a
Rosinha carioca	0.27 b
Mulato manteigão	0.28 b
Amendoim	0.41 a
Vermelho 1	0.34 a
Vermelho 2	0.35 a

Fonte: Elaborado pela autora.

4 CONCLUSÕES

Existe ampla divergência fenotípica e genética entre os genótipos de feijoeiro estudados;

A caracterização morfoagronômica e molecular foram eficientes na diferenciação dos genótipos, contribuindo para a conservação desses materiais, bem como com o programa de melhoramento;

Não há duplicatas genéticas entre os genótipos estudados;

Há significativa diversidade genética na amostra de genótipos de feijoeiro provenientes do município de Alegre, Espírito Santo, região do Caparaó Capixaba (regionais), mas entre os genótipos comerciais, a diversidade é relativamente estreita. As cultivares comerciais estudadas apresentaram pequena dissimilaridade;

Alguns genótipos avaliados neste estudo apresentam características importantes para o mercado consumidor, que poderá dar suporte a programas de melhoramento do feijoeiro;

A trapoeraba pode influenciar no desenvolvimento do feijoeiro, sendo que as cultivares podem apresentar comportamento diferente em relação à convivência.

5 REFERÊNCIAS

- ALVES, L. P. **Caracterização morfológica de genótipos crioulos de feijão da região do Caparaó capixaba por descritores mínimos.** 2016. 23 f. Trabalho de Conclusão de Curso de Pós-Graduação (Especialização em Agroecologia) - Instituto Federal do Espírito Santo, Alegre, 2016.
- AGARWAL, M.; SHRIVASTAVA, N.; PADH, H. Advances in molecular marker techniques and their applications in plant sciences. **Plant Cell Reports**, v. 27, n. 4, p. 617-31, 2008.
- BARBOSA, F. R.; GONZAGA, A. C. O. (Ed.). **Informações técnicas para o cultivo do feijoeiro-comum na Região Central-Brasileira: 2012-2014.** Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, (Documentos, 272), 2012.
- BITOCCHI, E. et al. Mesoamerican origin of the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) is revealed by sequence data. **PNAS**, Washington, v. 109, n. 14, p. 788-796, 2012.
- BORBA, R. D. S. et al. Dissimilaridade genética de linhagens de *Trichogramma* Westwood (Hymenoptera: Trichogrammatidae) através de marcadores moleculares ISSR. **Neotropical Entomology**, v. 34, n. 4, p. 565-569, 2005.
- BRASIL. Decreto n. 2.366, de 05 de novembro de 1997. Regulamenta a Lei n. 9.456, de 25 de abril de 1997, que institui a Proteção de Cultivares, dispõe sobre o Serviço Nacional de Proteção de Cultivares - SNPC, e dá outras providências. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, 7 nov. 1997.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Manual de hortaliças não-convencionais.** Secretaria de Desenvolvimento Agropecuário e Cooperativismo. 92 p. Brasília: Mapa/ACS. 2010.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes.** Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. 395 p. Brasília: MAPA. 2009.
- BUSHEY, S. M.; OWENS, S.; HOSFIELD, G. L. The epicuticular wax layer and water uptake in black beans. **Bean Improvement Cooperative**, Cali, p. 159-160, 2002.
- CABRAL, P. D. S. **Diversidade molecular e morfoagronômica de genótipos de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) avaliados na região sul do Espírito Santo.** 2010. 107 f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) - Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, 2010.
- CARBONELL, S. A. M. et al. Tamanho de grão comercial em cultivares de feijoeiro. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 40, n. 10, p. 2067-2073, 2010.
- CARDOSO, J. M. K. **Estimativa da diversidade genética entre acessos do tipo Carioca de feijão comum com base em marcadores moleculares.** 2009. 72 f.

Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical e Subtropical) – Instituto Agrônomo de Campinas, Campinas, 2009.

CARGNELUTTI FILHO, A.; RIBEIRO, N. D.; BURIN, C. Consistência do padrão de agrupamento de cultivares de feijão conforme medidas de dissimilaridade e métodos de agrupamento. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 45, n. 3, p. 236-243. 2010.

CARNEIRO, J. C. S. et al. Sensory profile and acceptability of cultivars of beans (*Phaseolus vulgaris* L.). **Food Science and Technology (Campinas)**, v. 25, n. 1, p. 18-24, 2005.

CARVALHO, M. F. de. et al. 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.

CARVALHO, R. S. et al. Variabilidade genética de cajuzinho-do-cerrado (*Anacardium humile* St. Hill.) por meio de marcadores RAPD, **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 34, n. 1, p. 227-233, 2012.

CELIN, E. F. **Caracterização morfoagronômica de acessos do banco ativo de germoplasma de feijão da UFV**. 2011. 56 f. Dissertação (Mestrado em genética e melhoramento) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2011.

CHEN, J. M. et al. The extent of clonality and genetic diversity in the rare *Caldesia grandis* (*Alismataceae*): comparative results for RAPD and ISSR markers. **Aquatic Botany**, v. 84, n. 4, p. 301-307, 2006.

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento de safra brasileira: grãos, sexto levantamento, março 2016** / Companhia Nacional de Abastecimento – Brasília: Conab, 138 p. 2016.

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

CRUZ, C. D. GENES - a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. **Acta Scientiarum**. v. 35, p. 271-276, 2013.

CURY, J. P. et al. Eficiência nutricional de cultivares de feijão em competição com plantas daninhas. **Planta Daninha**, v. 31, n. 1, p. 79-88, 2013.

CURY, J. P. et al. Produção e partição de matéria seca de cultivares de feijão em competição com plantas daninhas. **Planta Daninha**, v. 29, n. 1, p. 149-158, 2012.

DIAS, F. T. C. et al. Variabilidade genética de feijão-caupi de porte ereto e ciclo precoce analisada por marcadores RAPD e ISSR. **Revista Ciência Agronômica**, v. 46, n. 3, p. 563-572, 2015.

DOURADO NETO, D.; FANCELLI, A. L. **Produção de feijão**. Guaíba: Agropecuária, 385 p. 2000.

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

EMBRAPA - EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUARIA. **Manual de métodos de análises de solo**. 2. ed. Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura e do Abastecimento, 212 p. 1997.

FONSECA, J. R. et al. da. Algumas características do germoplasma de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) coletado no Espírito Santo. **Ceres**, v. 54, n. 314, 2015.

FREITAS, F. C. L. et al. Interferência de plantas daninhas na cultura do feijão-caupi. **Planta Daninha**, v. 27, n. 2, p. 241-247, 2009.

GOMES, L. S. **Cultivares de feijoeiro: efeito do solo, adubação foliar e competição com trapoeraba**. 2015. 67 f. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento) – Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, 2015.

GONÇALVES, L. S. A. et al. Divergência genética em tomate estimada por marcadores RAPD em comparação com descritores multicategóricos. **Horticultura Brasileira**, v. 26, p. 364-370, 2008.

GONZÁLEZ, A.; COULSON, M.; BRETTELL, R. Development of DNA markers (ISSRs) in mango. **Acta Horticulturae**, Wageningen, v. 575, p. 139-143, 2002.

GRIGOLO, S. **Potencial na hibridação entre cultivares de feijão do grupo andino e mesoamericano**. 2015. 41 f. Trabalho de Conclusão de curso (Graduação em Agronomia) - Centro de Curitibanos da Universidade Federal de Santa Catarina, Santa Catarina, 2015.

GUIMARÃES, W. N. R. **Caracterização morfológica e molecular de acessos de feijão-lima (*Phaseolus lunatus* L., Fabaceae) da coleção de germoplasma do Departamento de Agronomia da UFRPE**. 2005. 73 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2005.

GUIMARÃES, W. N. R. et al. Caracterização morfológica e molecular de acessos de feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.). **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 11, n. 1, p. 37-45, 2007.

IBGE. **Censo Agropecuário 2006**. Disponível em <<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/acervo/acervo2.asp?e=v&p=CA&z=t&o=10>>. Acesso em: 01 dez. 2015.> 2006.

KAPPES, C. et al. Componentes produtivos de cultivares de feijão comum em cultivo safrinha. In: **CONGRESSO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO**. p. 510-513. 2008.

LIMA, J. S. S. et al. Variabilidade temporal da precipitação mensal em Alegre-ES. **Revista Ciência Agrônômica**, Fortaleza, v. 39, n. 2, p. 327-332, 2008.

MELLO, L. F. **Divergência genética em subamostras de feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.) por meio de marcadores agromorfológicos e microssatélites**. 2011.

106 f. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento) – Universidade Federal do Piauí, Teresina, 2011.

MEROTTO JUNIOR, A. et al. Interferência das plantas daninhas sobre o desenvolvimento inicial de plantas de soja e arroz através da qualidade da luz. **Planta daninha**, v. 20, n. 1, p. 9-16, 2002.

MOJENA, R. Hierarchical grouping methods and stopping rules: An evaluation. **The Computer Journal**, v. 20, n. 4, p. 359-363, 1977.

MONTEIRO, P. F. C.; ANGULO FILHO, R.; MONTEIRO, R. O. C. Efeitos da irrigação e da adubação nitrogenada sobre as variáveis agrônômicas da cultura do feijão. **Irriga**, v. 15, n. 4, p. 386, 2010.

MOULIN, M. M. et al. Uso de marcadores ISSR para estimar a diversidade genética entre acessos de pimenta coletados no sul do estado do espírito santo. **Biológicas & Saúde**, v. 3, n. 10, 2013.

MOURA ZANINE, A. de; SANTOS, E. M. Competição entre espécies de plantas – uma revisão. **Revista da FZVA**, v. 11, n. 1, 2004.

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, v. 11, n. 3, 2008.

OLIVEIRA JR, R. S. de; CONSTANTIN, J.; INOUE, M. H. **Biologia e manejo de plantas daninhas**. Curitiba, PR: Omnipax, 348 p. 2011.

PAULA, S. R. R. de. **Efeito materno associado à capacidade de cozimento do feijoeiro**. 2004. 53 f. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Federal de Lavras. Lavras. 2004.

PEDROSA, M. M. et al. Effects of industrial canning on the proximate composition, bioactive compounds contents and nutritional profile of two Spanish common dry beans (*Phaseolus vulgaris* L.). **Food Chemistry**, v. 166, p. 68-75, 2015.

POSSE, S. C. P. et al. Informações técnicas para o cultivo de feijoeiro-comum na região central-brasileira 2009-2011. **Incaper. Documentos**, 191, 245 p, 2010.

PUERTA ROMERO, J. **Variedades de judias cultivadas en Espana**. Madrid: Ministério da Agricultura, 798 p. (Monografias, 11), 1961.

QUEIROGA, J. L. et al. 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.

ROCHA, D. C.; RODELLA, R. A.; MARTINS, D. Caracterização morfológica de espécies de trapoeraba (*Commelina* spp.) utilizando a análise multivariada. **Planta Daninha**, v. 25, n. 4, p. 671-678, 2007.

RODRIGUES, L. S. et al. Divergência genética entre cultivares locais e cultivares melhoradas de feijão. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 37, n. 9, p. 1275-1284, 2002.

SAEG. **Sistema para Análises Estatísticas e Genéticas**. Versão 8.0. Viçosa: UFV, Manual do usuário. 147p. 1999.

SANTOS, I. C. D. et al. Efficiency of glyphosate in the control of *Commelina benghalensis* and *Commelina diffusa*. **Planta Daninha**, v. 19, n. 1, p. 135-143, 2001.
SANTOS, J. B.; GAVILANES, M. L. Botânica. In: VIEIRA, C.; PAULA JÚNIOR, T. J.; BORÉM, A. (Eds). **Feijão**. 2. ed. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, p. 41-65, 2006.

SILVA, A. G.; ROCHA, L. C.; CANNIATTI BRAZACA, S. G. Caracterização físico-química, digestibilidade protéica e atividade antioxidante de feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) Physico-chemical characterization, protein digestibility and antioxidant activity of commun bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Alimentos e Nutrição Araraquara**, v. 20, n. 4, p. 591-598, 2010.

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

SILVA, K. V. P. da. et al. Variabilidade genética entre acessos do gênero *Manihot* por meio de marcadores moleculares ISSR. **Pesquisa agropecuária brasileira, Brasília**, v. 46, n. 9, p. 1082-1088, 2011.

SILVA, R. N. O. **Diversidade genética em feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.) por marcadores morfoagronômicos e moleculares**. 2011. 176 f. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento) - Universidade Federal do Piauí, Teresina, 2011.

SILVA, S. A. et al. Caracterização de genótipos de fruteiras potenciais para o nordeste brasileiro. IN: CARVALHO, C. A. L. (et al.) **Tópicos em Ciências Agrárias**. Cruz das Almas, BA, UFRB. v. 1, p. 17-22, 2009.

SOKAL, R. R.; ROHLF, F. J. **Biometry: the principles and practice of statistics in biological research**. 3. ed. New York: W. H, Freeman and Company, 887 p. 1995.

SOUZA, H. G. D. et al. Diversidade genética em populações-núcleo de *Eucalyptus grandis*. **Acta Scientiarum: Agronomy**, p. 621-625, 2010.

TEIXEIRA, I. R. et al. Competição entre feijoeiros e plantas daninhas em função do tipo de crescimento dos cultivares. **Planta Daninha**, v. 27, n. 2, p. 235-240, 2009.

TOPPA, E. V. B.; JADOSKI, C. J. O uso de marcadores moleculares no melhoramento genético de plantas. **Scientia Agraria Paranaensis**, v. 12, n. 1, p. 1-5, 2013.

USDA. **Plants profile:** *Phaseolus vulgaris* L. kidney bean. United States Department of Agriculture: Natural Resources Conservation System, 2012. Disponível em <<http://plants.usda.gov/java/profile?symbol=phvu>>. Acesso em 21 de dezembro de 2015.

VIEIRA, C. **Cultura do feijão**. 2. ed. Viçosa, MG: UFV, 146 p. 2006.

VIEIRA, E. A. et al. Divergência genética entre acessos açucarados e não açucarados de mandioca. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 43, n. 12, p. 1707-1715, 2008.

VIEIRA, R. F.; OLIVEIRA, V. R.; VIEIRA, C. Cultivo do feijão-mungo-verde no verão em Viçosa e em Prudente de Moraes. **Horticultura Brasileira**, v. 21, n. 1, p. 37-43, 2003.

VILHORDO, B. W. et al. 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.

ZILIO, M. et al. Contribuição dos componentes de rendimento na produtividade de genótipos crioulos de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). **Revista Ciência Agronômica**, v. 42, n. 2, p. 429-438, 2011.

ZILIO, M. et al. Cycle, canopy architecture and yield of common bean genotypes (*Phaseolus vulgaris*) in Santa Catarina State. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 35, p. 21-30, 2013.