

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

MARINA SANTOS CARVALHO

**PRÉ-MELHORAMENTO DE FEIJÕES CRIoulos E COMERCIAIS CULTIVADOS
NO ESTADO DO ESPÍRITO SANTO**

ALEGRE-ES

2019

MARINA SANTOS CARVALHO

**PRÉ-MELHORAMENTO DE FEIJÕES CRIoulos E COMERCIAIS CULTIVADOS
NO ESTADO DO ESPÍRITO SANTO**

Tese 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 Doutora em Genética e Melhoramento.
Orientador: Prof. Dr. Adésio Ferreira.

ALEGRE-ES

2019

Ficha catalográfica disponibilizada pelo Sistema Integrado de Bibliotecas -
SIBI/UFES e elaborada pelo autor

- C331p Carvalho, Marina Santos, 1991-
Pré-Melhoramento de feijões crioulos e comerciais
cultivados no Estado do Espírito Santo / Marina Santos Carvalho.
- 2019.
109 f. : il.
- Orientador: Adésio Ferreira.
Coorientadores: Marcia Flores da Silva Ferreira, Thiago Lívio Pessoa
Oliveira de Souza, Cíntia Machado de Oliveira Moulin Carias.
Tese (Doutorado em Genética e Melhoramentos) - Universidade Federal
do Espírito Santo, Centro de Ciências Agrárias e Engenharias.
1. *Phaseolus vulgaris* L. 2. Melhoramento genético. 3. Descritores
morfoagronômicos. 4. *Simple Sequence Repeat*. 5. *Single Nucleotide
Polymorphisms*. I. Ferreira, Adésio. II. Ferreira, Marcia Flores da Silva. III. Souza,
Thiago Lívio Pessoa Oliveira de. IV. Carias, Cíntia Machado de Oliveira Moulin. V.
Universidade Federal do Espírito Santo. Centro de Ciências Agrárias e Engenharias.
VI. Título.

CDU: 631.523

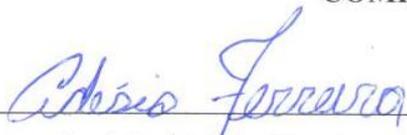
MARINA SANTOS CARVALHO

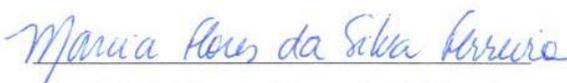
**PRÉ-MELHORAMENTO DE FEIJÕES CRIoulos E COMERCIAIS CULTIVADOS
NO ESTADO DO ESPÍRITO SANTO**

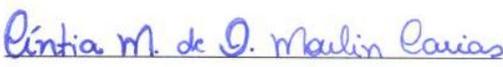
Tese apresentada ao programa de Pós-graduação em Genética e Melhoramento do Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do título de Doutora em Genética e Melhoramento.

Aprovada em 25 de fevereiro de 2019.

COMISSÃO EXAMINADORA


Prof. Dr. Adésio Ferreira
Universidade Federal do Espírito Santo
Orientador


Prof.^a Dr.^a. Marcia Flores da S. Ferreira
Universidade Federal do Espírito Santo
Coorientadora


Dr.^a. Cíntia Machado de O. M. Carias
Coorientadora


Prof. José Carlos Lopes
Universidade Federal do Espírito Santo
Membro externo ao programa


Dr.^a. Sheila Cristina Prucoli Posse
Pesquisadora Incaper
Membro externo à Instituição

AGRADECIMENTOS

A Deus;

Aos meus pais Salvelina e Inácio, pela compreensão, o amor incondicional e por terem superado as dificuldades e me proporcionado educação;

Aos meus irmãos, José, Jakelina, Gizelina e Joselino pelo carinho, apoio e incentivo;

Aos meus sobrinhos, Joyce, Rodrigo, Kayllane, Marcela, Reynan, Giovana e a minha sobrinha neta Emanuela, por toda a alegria que eles trazem para minha vida;

Ao meu avô Manoel pelo amor e cuidado;

Aos demais familiares que sempre estiveram ao meu lado;

Ao meu orientador Dr. Adésio Ferreira, pelos ensinamentos, pela dedicação e pela paciência;

Aos meus coorientadores Dr^a. Marcia Flores de Silva Ferreira, Dr. Thiago Lívio Pessoa Oliveira de Souza e Dr^a. Cíntia Machado de Oliveira Moulin Carias pela dedicação, paciência e por todos os ensinamentos;

Ao Dr. José Carlos Lopes e Dr^a Sheila Cristina Prucoli Posse por terem aceitado participar da banca de defesa da minha tese e por todas as contribuições e sugestões no trabalho;

À Universidade Federal do Espírito Santo – UFES e ao programa de Pós-graduação em Genética e Melhoramento pela oportunidade de realizar o doutorado;

À FAPES, ao CNPq e CAPES pelo financiamento do trabalho e concessão de bolsa;

Aos amigos do Laboratório de Genética e Melhoramento Vegetal: Luziane, Francine, Alexia e Luara, pela amizade, compartilhamento de experiências e diálogos;

Aos amigos do Laboratório de Biometria: Beatriz, José Henrique, Drieli, Guilherme e Miquéias, pelos momentos de descontração e o alegre convívio;

Ao amigo Matheus pela ajuda nas análises laboratoriais;

Aos amigos Sabrina, Edson, Natália, Valderson, Soninha e ao apoio técnico Jorge pela ajuda nos experimentos de campo;

A Luana e Sylvana por terem me apresentado o laboratório de biotecnologia da Embrapa arroz e feijão e pela ajuda nas análises laboratoriais;

Às amigas: Alda, Luina, Lidiane, Amélia, Carolina e Paula pela amizade e a agradável companhia;

Aos meus gatos Kim e Fred por tornarem meus dias mais felizes;

A todos que participaram e contribuíram para realização deste trabalho;

BIOGRAFIA

MARINA SANTOS CARVALHO, filha de Inácio José de Carvalho e Salvelina Santos Lélis, nasceu na cidade de Picos, Piauí (PI), em 08 de agosto de 1991.

Concluiu o Ensino Fundamental em 2005, na Escola Municipal Antônio Tapety em Ipiranga do Piauí - PI e o ensino médio em 2008, na Unidade Escolar Dom Joaquim Rufino de Rêgo, em Ipiranga do Piauí - PI.

Graduou-se no Curso de Licenciatura Plena em Ciências Biológicas da Universidade Estadual do Piauí - PI em março de 2013.

Concluiu o Curso de Mestrado em 2015 no Programa de Pós-graduação em Genética e Melhoramento, linha de pesquisa Melhoramento, na Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre-ES.

Em 2015 iniciou o Curso de Doutorado no Programa de Pós-graduação em Genética e Melhoramento, linha de pesquisa Melhoramento, na Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre-ES.

CARVALHO, Marina Santos. Pré-Melhoramento de feijões crioulos e comerciais cultivados no Estado do Espírito Santo. 2019. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento). Universidade Federal do Espírito Santo. Orientador: Dr. Adésio Ferreira. Coorientadores: Dr^a Marcia Flores da Silva Ferreira, Dr. Thiago Lívio Pessoa Oliveira de Souza e Dr^a. Cíntia Machado de Oliveira Moulin Carias.

RESUMO

O feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) é uma leguminosa da família Fabaceae, sendo uma importante fonte de proteínas e fibras. O tipo crioulo é cultivado principalmente na agricultura familiar e merecem destaque por possuírem genes de interesse para o melhoramento genético. No estado do Espírito Santo a produção é predominantemente realizada por meio de agricultura familiar em propriedades distribuídas em todas as regiões do estado, com finalidade para subsistência e mercados locais. Os acessos de feijões crioulos são adaptados às condições locais e selecionados ao longo de várias gerações, entretanto não são caracterizados. A fim de se identificar potenciais acessos crioulos e comerciais para uso no melhoramento objetiva-se com este estudo caracterizar por meio de marcadores moleculares *Single Sequence Repeat* (SSR), *Single Nucleotide Polymorphism* (SNPs) e por descritores agromorfológicas a diversidade genética de uma coleção de feijões crioulos cultivados no estado do Espírito Santo em comparação com cultivares comerciais, obtidas de diversos programas de melhoramento genético. Inicialmente, 159 acessos de feijões crioulos foram colhidos em propriedades rurais e mercado públicos no estado do Espírito Santo e 27 cultivares comerciais foram cedidas da coleção de trabalho do Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural (Incaper). Esses acessos foram avaliados quanto à diversidade genética com 13 *loci* microssatélites. O conteúdo de informação polimórfica médio dos SSRs foi 4,46, caracterizando-os como medianamente informativo e a heterosigiosidade esperada (*He*) média foi de 0,51, sugerindo que os acessos possuem ampla diversidade genética. O número alélico (*A*), alelos privados (*AP*) e raros (*AR*) foi observado em maior magnitude nos acessos crioulos (crioulos, *He*=0,50, *A*=5, *AP*=29, *AR*=30; comerciais, *He*=0,42, *A*=2,92, *AP*=2, *AR*=8), demonstrando que os acessos crioulos representam potencialmente um reservatório de alelos raros e privados em comparação com os estoques comerciais. A análise da variância molecular mostrou diversidade genética significativa e diferenciação moderada entre os grupos de acessos crioulos e comerciais (9,89%, *FST*=0,074, *P*<0,01) e dentro de grupo foi 90,11%, porém não significativo. Com o

UPGMA os acessos foram divididos em 10 grupos principais, dos quais um foi formado por 89% dos acessos (138 crioulos e todos os comerciais), o qual foi subdividido em 28 e foi possível discriminar os 50 acessos que representaram um subconjunto de feijão comum divergente. Esses acessos foram submetidos a três experimentos de campo em duas safras nos anos agrícolas de 2017 e 2018, conduzido em blocos ao acaso com três repetições. Foram analisados 12 variáveis morfoagronômicas. A análise multivariada da variância indicou diferenças significativas entre os acessos de feijão comuns avaliadas, sugerindo haver variabilidade entre acessos. A característica com maior poder discriminatório foi a altura de plantas variando de 30,89 (Vermelho-132) a 102,29 cm (Pérola-22). Os acessos Verde-111, Branco-110, Pérola-102, Preto-13-69, Feijão rainha-18, Branco-05 apresentaram elevados níveis de produtividade (acima de 3.000 kg.ha⁻¹). Pelo UPGMA foram formados seis grupos, sendo um deles composto por 96,30% dos cultivares comerciais, sugerindo que os crioulos possuem características de interesse, dado que os comerciais já passaram por algum processo de melhoramento genético. Posteriormente, houve um incremento na coleção de feijão com outras amostras colhidas no estado, totalizando 206 acessos crioulos, bem como 47 amostras de cultivares comerciais fornecidas pela Embrapa Arroz e Feijão e 12 pelo Incaper. Estas amostras foram analisadas com 23 SSR, marcados com fluorescência e analisados em sistema de coamplificação multiplex em eletroforese capilar e por 251 SNPs. Na coleção total os marcadores SSRs permitiram a detecção de 272 alelos, com média de 10,74 por *locus*. Para os SNPs o número total de alelos foi 439 com média de dois por *locus*. Os SSR produziram altos valores de PIC (0,65) enquanto os SNPs apresentaram valor de PIC menor (0,27). A diversidade genética média, quantificada pela heterozigosidade esperada foi maior para os *loci* SSR (0,678) do que para os SNPs (0,34). O número ideal de grupos pela análise do software STRUCTURE foram dois para ambos marcadores. As Matrizes de dissimilaridade genética para dados alélicos de SSRs e SNPs foram altamente correlacionadas ($r = 0,74$; 0,005), portanto, os marcadores foram combinados e analisados para a compreensão das relações genéticas entre os acessos estudados. A análise de *neighbor joining*, considerando a distância genética de coincidência simples, agrupou os 265 acessos em 17 subgrupos. Este trabalho revelou ampla divergência genética na coleção de trabalho, o que a torna uma fonte valiosa para a conservação, manejo e posterior utilização dos acessos nos programas de melhoramento da cultura.

Palavras-chaves: *Phaseolus vulgaris* L. Melhoramento genético. Descritores morfoagronômicos. *Simple Sequence Repeat*. *Single Nucleotide Polymorphisms*.

CARVALHO, Marina Santos. Pre-improvement of common bean landraces and commercial beans cultivated in the state of Espírito Santo. 2019. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento). Universidade Federal do Espírito Santo. Orientador: Dr. Adésio Ferreira. Coorientadores: Dr^a Marcia Flores da Silva Ferreira, Dr. Thiago Lívio Pessoa Oliveira de Souza e Dr^a. Cíntia Machado de Oliveira Moulin Carias.

ABSTRACT

The common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) is a legume of the Fabaceae family, being an important source of proteins and fibers. The landrace type is cultivated mainly in family agriculture and deserve prominence for having genes of interest for breeding. In the state of Espírito Santo, production is predominantly carried out through family farms in properties distributed in all regions of the state. The common bean landraces are adapted to local conditions and selected over several generations, however they are not characterized. In order to identify potential common bean landrace and commercial for use in breeding, the objective of this study is to characterize by means of molecular markers SSRs (*Single Sequence Repeat*), SNPs (*Single Nucleotide Polymorphism*) and by agromorphological descriptors the genetic diversity of a collection of beans grown in the state of Espírito Santo in comparison to commercial cultivars obtained from several breeding programs. Initially, 159 accessions of landraces beans were harvested on public farms and public markets in the state of Espírito Santo and 27 commercial cultivars were transferred from the work collection of the Capixaba Institute for Research, Technical Assistance and Rural Extension (Incaper). These accessions were evaluated for genetic diversity with 13 microsatellite loci. The mean polymorphic information content of the SSRs was 4.46, characterizing them as moderately informative and the expected heterozygosity (*He*) was 0.51, suggesting that the accesses have a wide genetic diversity. The allelic number (*A*), private (*AP*) and rare alleles (*AR*) were observed in greater magnitude in the bean landraces (landraces, *He* = 0.50, *A* = 5, *AP* = 29.30, commercial, *He* = 0.42, *A* = 2.92, *AP* = 2, *AR* = 8), demonstrating that the common bean landraces potentially represent a reservoir of rare and private alleles compared to commercial stocks. The analysis of molecular variance showed significant genetic diversity and moderate differentiation between the groups of commercial and criollo accesses (9.89%, *FST* = 0.074, *P* < 0.01) and within the group was 90.11%, but not significant. The UPGMA divided the accesses into 10 main groups, of which one was formed by 89% of the accesses (138 landraces and all the commercial ones), which was subdivided into 28. The UPGMA allowed to discriminate the

50 accesses that represented a subset of common bean divergent. These accesses were submitted to three field experiments in two harvests in the agricultural years of 2017 and 2018, conducted in randomized blocks with three replicates. Twelve morphoagronomic variables were analyzed. The multivariate analysis of the variance indicated significant differences among the common bean accesses evaluated, suggesting there is variability among accessions. The characteristic with greater discriminatory power was the height of plants ranging from 30.89 (Red-132) to 102.29 cm (Pearl-22). The accessions Green-111, White-110, Pearl-102, Black 13-69, Beans queen-18, White-05 showed high levels of productivity (above 3,000 kg.ha⁻¹). Six groups were formed by the UPGMA, one of them composed of 96.30% of the commercial cultivars, suggesting that the landraces have characteristics of interest, since the commercial ones have already undergone some process of genetic improvement. Later, there was an increase in the bean collection with other samples collected in the state, totaling 206 landraces accesses, as well as 47 samples of commercial cultivars provided by Embrapa Rice and Bean and 12 by Incaper. These samples were analyzed with 23 SSR, labeled with fluorescence and analyzed in a multiplex coamplification system in capillary electrophoresis and by 251 SNPs. In the total collection the SSR markers allowed the detection of 272 alleles, with an average of 10.74 per locus. For the SNPs the total number of alleles was 439 with a mean of two per locus. SSR produced high PIC values (0.65) while SNPs had a lower PIC value (0.27). The mean genetic diversity, quantified by the expected heterozygosity was higher for the SSR loci (0.678) than for the SNPs (0.34). The ideal number of groups by the STRUCTURE software analysis were two for both markers. Genetic dissimilarity matrices for allelic data from SSRs and SNPs were highly correlated ($r = 0.74$, 0.005), so the markers were combined and analyzed for understanding the genetic relationships among the studied subjects. The neighbor joining analysis, considering the simple coincidence genetic distance, grouped the 265 accessions into 17 subgroups. This work revealed a wide genetic divergence in the work collection, which makes it a valuable source for the conservation, management and later use of the accesses in crop breeding programs.

Keywords: *Phaseolus vulgaris* L. Genetic improvement. Morphoagronomic descriptors. Simple Sequence Repeat. Single Nucleotide Polymorphisms

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I - Caracterização de feijão crioulo e comerciais cultivado no estado do Espírito Santo utilizando marcadores microssatélites e variáveis morfoagronômicas

- Figura 1.** Municípios do estado do Espírito Santo onde foram colhidos 91 acessos de feijão crioulo. Alegre (42 acessos); Cachoeiro de Itapemirim (1), Domingos Martins (7), Guaçuí (16), Ibitirama (2), Irupi (5), Muniz Freire (4), Santa Angélica (3), Santa Tereza (4), Venda Nova (2), Vila Velha (2), Vitória (3).....28
- Figura 2.** Dendrograma UPGMA construído a partir de medidas da distância de coincidência simples de 185 acessos de feijão. Nomes em preto são os acesso crioulos em vermelho são os cultivares comerciais.37
- Figura 3.** Análises de agrupamento baseado em 13 loci microssatélites avaliados em 185 acessos de feijões comuns, crioulos e comerciais. Atribuição individual a cada um dos grupos para $K=2$ e $K=3$, em que, cada indivíduo é representado por uma linha e a proporção de cada cor indica a ancestralidade de cada grupo.38
- Figura 4.** Análise de coordenadas principais obtida através de 13 *loci* de microssatélites avaliados em 185 acessos de feijão comum, representando os 27 feijões comerciais (vermelho), os 158 acessos crioulos (verde), e destes, os 50 selecionados para avaliação em campo (borda preta).....39
- Figura 5.** Matriz de correlação de Pearson entre 10 variáveis morfoagronômicas avaliadas em 50 acessos de feijão comum. ALT: altura da planta, APV: altura da primeira vagem, DIAM: diâmetro do caule, NN: número de nós à colheita, NR: número de racemos, NRP: número de racemos produtivas, NV: número de vagens por planta, NLV: número de lóculos por vagem, P100: peso de 100 grãos; RG: rendimento de grãos. Os asteriscos indicam os níveis de confiança de $p<0,1$, $p<0,01$, $P<0,001$ para *, ** e ***, respectivamente.41
- Figura 6.** Dendrograma obtido por meio de 10 variáveis quantitativas com a distância de Mahalanobis e pelo método de agrupamento UPGMA em 50 acessos de feijão comum. As setas indicam os acessos com peso de 100 sementes acima de 30g. Também está apresentado as cargas vetoriais dos quatro primeiros componentes principais. As cargas vetoriais são os pesos dados a cada variável para cada um dos componentes por meio do qual permitem a interpretação das componentes.43
- Figura 7.** Biplot dos dois primeiros eixos da análise de componentes principais (PC1 e PC2) de 10 variáveis morfoagronômicas avaliadas em 50 acessos de feijão comum. ALT: altura da planta, APV: altura da primeira vagem, DIAM: diâmetro do caule, NN: número de nós à colheita, NR: número de racemos, NRP: número de racemos produtivas, NV: número de

vagens por planta, NLV: número de lóculos por vagem, P100: peso de 100 grãos; RG: rendimento de grãos.....44

CAPÍTULO II - Diversidade e Estrutura Genética de Acessos Locais e Comerciais de Feijão Comum Via Marcadores SSR e SNP

Figura 1. Municípios do estado do Espírito Santo nos quais foram coletados os acessos de feijão-comum cultivados por produtores locais. A legenda de cores indica os municípios de coleta no mapa.70

Figura 2. Distribuição dos valores de conteúdo de informação polimórficas nos 217 locos SNP e 23 locos SSR utilizados nas análises de diversidade genéticos dos 249 genótipos de feijão comum.74

Figura 3. Estrutura de populações inferida por abordagem Bayesiana em 249 genótipos de feijão-comum baseada em 23 marcadores SSR, 251 SNP e a combinação de SSR e SNP com K= 2, 3 e 4. As amostras foram ordenadas de acordo com o Apêndice 1. Cada grupo é representado por uma cor, cada indivíduo é representado por uma barra vertical. Linhas de duas cores representam genótipos com mistura.75

Figura 4. Relação entre os conjuntos de marcadores SNP (eixo y) e SSR (eixo x) calculada usando dissimilaridade de correspondência simples (Mantel $r = 0,7418$). Cada ponto representa uma comparação entre matrizes de dissimilaridade.....77

Figura 5. Dendrograma Neighbor-joining baseado em uma matriz de dissimilaridade de simples correspondência 250 genótipos representado grupos definidos pelo STRUCTURE em K=2 para os seguintes conjuntos de marcadores: A) SSR-di e B) SNPs.O Cluster 1 está representado em vermelho (Landrace) e azul (cultivar/line) e o grupo dois está em verde (landrace) e em roxo (cultivar/linha).78

Figura 6. Dendrograma Neighbor Joining constituído a partir da Dissimilaridade de Simples Correspondência para 249 genótipos de feijão comum com o conjunto de 217 SNP90 e 23 SSR concatenados. As ramificações foram coloridas de acordo com os subgrups. Os indivíduos de cada grupo estão no Apêndice 4.80

Figura 7. Imagens representativas demonstrando a diversidade de tamanho, forma e cor de sementes disponíveis na coleção de feijão analisada neste estudo.....81

Figura 8. Análise de coordenadas principais (PCoA) em um conjunto de 249 genótipos de feijão-comum utilizando: a) 251 SNPs, b) 23 SSRs e c) SSRs+SNPs. Nas cores verde (feijões crioulo) e roxo (feijões comerciais) estão os acessos que identificados com o Cluster 1 de acordo com o resultado do software STRUCTURE e nas cores azul (feijões crioulo) e vermelho (feijões comerciais) estão os acessos do Cluster 2.82

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I - Caracterização de feijão crioulo e comerciais cultivado no estado do Espírito Santo utilizando marcadores microssatélites e variáveis morfoagronômica

Tabela 1. Feijões selecionados para caracterização morfoagronômica em experimentos de campo. Nome, grupo comercial, municípios de coleta, peso de 100 grãos e hábito de crescimento dos acessos de feijão comum, colhidos e cultivados no estado do Espírito Santo.	29
Tabela 2. Informações dos 13 <i>loci</i> microssatélites utilizados.....	97
Tabela 3. Comparação de SSR genômico e SSR-EST de 13 loci de microssatélites investigados em 185 acessos de feijão comum.	36
Tabela 4. Análise descritiva de 13 loci de microssatélites avaliados em 185 acessos de feijão comum dos grupos comerciais e crioulos.....	36
Tabela 5. Análise de variância molecular (AMOVA) de dois níveis hierárquicos obtida a partir de 13 loci de microssatélites avaliados em 185 acessos de feijão comum, grupos comercial e crioulo.	39
Tabela 6. Resultados da análise de variância multivariada (MANOVA) realizada em 50 acessos com 12 variáveis morfoagronômica.	40
Tabela 7. Contribuição relativa dos caracteres para diversidade pelo método de Singh (1981) através da distância generalizada de Mahalanobis.	42
Tabela 8. Coeficientes de 10 variáveis analisadas em 50 acessos de feijão comum para os três primeiros componentes principais.	45

CAPÍTULO II - Diversidade e Estrutura Genética de Acessos Locais e Comerciais de Feijão Comum Via Marcadores SSR e SNP

Tabela 1. Resumo da análise de variância molecular (AMOVA) entre cultivares comerciais e acessos crioulos dos pool gênicos Andino (AND) e Mesoamericanos (MÊS) de feijão-comum.	83
---	----

APÊNDICE

CAPÍTULO I - Caracterização de feijão crioulo e comerciais cultivado no estado do Espírito Santo utilizando marcadores microssatélites e variáveis morfoagronômica.

Apêndice 1. Informações dos 185 acessos de feijão comum utilizados na análise de SSR e caracterização morfoagronômica. Acesso (código do acesso), município, grupo comercial e origem.....	60
Apêndice 2. (a) Verossimilhança média ($L_n(K) \pm s.d$) e (b) delta K (média ($ L''(K) $) / s.d ($L(K)$)) valores de 10 iterações, cada um obtido pelo programa STRUCTURE HARVESTER para determinar o número mais provável de agrupamentos das 185 amostras de feijão comum.	64
Apêndice 3. Médias dos 12 caracteres quantitativos de 50 acessos de feijão comum.....	65

CAPÍTULO II - Diversidade e Estrutura Genética de Acessos Locais e Comerciais de Feijão Comum Via Marcadores SSR e SNP

Apêndice 1. Informação das análises de caracterização molecular de marcadores SSR e SNPs dos 265 acessos de feijão comuns utilizados.....	91
Apêndice 2. Descrição dos 23 SSR utilizado na caracterização de 249 acessos de feijão comum. AA: Amplitude alélica; GL: grupo de ligação; Na: número alélico; He: heterozigosidade esperada; Ho: heterozigosidade observada; f: índice de fixação; PIC: conteúdo de informação polimórfico.....	93
Apêndice 3. Coeficientes de adesão posteriores após análise STRUCTURE para k=2.	98
Apêndice 4. Os 265 acessos de feijão agrupados nos 17 grupos gerados pela análise neighbor joining com a combinação de 23 SSRs e 251 SNPs.....	108
Apêndice 5. Estrutura de populações inferida por abordagem Bayesiana em 249 acessos de feijão comum baseada na combinação de 23 SSR e 217 SNPs com K= 2. Cada grupo é representado por uma cor, cada indivíduo é representado por uma barra vertical. Linhas de duas cores representam genótipos com mistura.	111

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL	16
2 OBJETIVOS	19
2.1 Objetivo geral	19
2.2 Objetivos Específicos	19
3 REFERÊNCIAS	20
CAPÍTULO I - Caracterização de feijão crioulo e comerciais, cultivados no estado do Espírito Santo, utilizando marcadores microssatélites e variáveis morfoagronômica	23
1 INTRODUÇÃO	25
2 MATERIAL E MÉTODOS	27
2.1 Material vegetal	27
2.3 Diversidade genética por marcadores microssatélites	30
2.4 Caracterização morfoagronômica	32
2.5 Análise dos dados moleculares	33
2.6 Análises dos dados morfoagronômicos	34
3 RESULTADOS	35
3.1 Diversidade genética por marcadores microssatélites	35
3.4 Caracterização morfoagronômica	39
4 DISCUSSÃO	45
4.1 Diversidade genética por marcadores microssatélites	46
4.2 Caracterização morfoagronômica	48
5 CONCLUSÃO	52
6 REFERÊNCIAS	53
APÊNDICE	60
CAPÍTULO II - Feijoeiros cultivados em sistema de agricultura familiar no estado do Espírito Santo e relação com cultivares comerciais Brasileiras	66
1 INTRODUÇÃO	67

2 MATERIAL E MÉTODOS	69
2.1 Material vegetal	69
2.2 Genotipagem com marcadores SSR	71
2.3 Genotipagem com marcadores SNP	71
2.4 Análises estatísticas	71
3 RESULTADOS	73
4 DISCUSSÃO	84
5 CONCLUSÃO	87
REFERÊNCIAS	87
APÊNDICE	91

1 INTRODUÇÃO GERAL

O feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) é uma leguminosa de importância sócio-econômica utilizada como um alimento básico na população de diversas localidades da América Latina, África e Ásia, envolvendo aproximadamente 2 milhões de produtores dispersos nos países, com 64% da produção praticada pela agricultura familiar (PETRY et al., 2015, DELFINI et al., 2017). No ano de 2017 o cultivo foi realizado em 124 países, em mais de 37 milhões de hectares, com uma produção total de cerca de 32 milhões de toneladas por ano (FAO 2017). O Brasil se classificou como o terceiro maior produtor de feijão no mundo com uma produção anual de cerca de 3 milhões de toneladas (FAO, 2017).

A espécie pertence à família Fabacea, subfamília Papilionoideae, gênero *Phaseolus* (DEBOUCK, 1993; SANTOS; GAVILANES, 2006). O gênero é composto por cerca de 70 espécies, todas nativas das Américas, principalmente do México (DELGADO-SALINAS et al., 2011), das quais cinco são amplamente cultivadas: *P. vulgaris*, *P. dumosus* Macfad, *P. coccineus* L, *P. acutifolius* A. Gray e *P. lunatus* L (ACOSTA-GALLEGOS et al., 2007). A mais proeminente destas espécies trata-se do feijão comum, cujo cultivo é realizado nas mais variadas condições edafoclimáticas e em diferentes épocas e sistemas de cultivo.

O feijoeiro é uma espécie diploide ($2n = 2x = 22$) e predominantemente autógama (RAMALHO; ABREU, 2006; FONSÊCA et al., 2010) com taxa de fecundação cruzada aproximadamente de 3%, (RAMALHO; ABREU, 2006). Sua origem ocorreu na Mesoamérica (BITOCCHI et al., 2012) e a domesticação resultou na formação de dois pool gênico: o mesoamericanos e andinos (BITOCCHI et al., 2017). Estima-se que a divergência entre os pools gênicos tenha ocorrido há ~165.000 anos atrás (SCHMUTZ et al., 2014). Genes relacionados a características agrônômicas importantes aos programas atuais de melhoramento, como floração, altura da planta e metabolismo de nitrogênio, foram identificados como estando sob seleção durante o processo de domesticação (SCHMUTZ et al., 2014). O pool gênico andino ocorre do sul do Peru ao noroeste da Argentina, enquanto o mesoamericano estende-se da Colômbia até o norte do México (KWAK et al., 2009). Os genótipos do pool gênico andino geralmente possuem grãos grandes e faseolina tipo T, enquanto os mesoamericanos apresentam grãos pequenos ou médios e faseolina tipo S (GEPTS et al. 1986).

O consumo de feijão no Brasil depende principalmente de características morfológicas como cor, formato e tamanho da semente (CARNEIRO et al., 2005). No cenário nacional o feijão é caracterizado como uma cultura de pequena a média propriedade, na qual o percentual

de uso de sementes melhoradas não ultrapassa 19% (ABRASEM, 2015), os demais 81% são sementes oriundas de genótipos locais, selecionadas pelos agricultores ao longo de gerações de acordo com as condições ambientais e socioeconômicas de cada microrregião (CORDEIRO; MARCATO, 1994; RODIÑO et al., 2009). Estas sementes que advêm de safras anteriores, selecionadas pelos agricultores ao longo dos anos, sem passarem pelo processo de melhoramento genético, são classificadas como sementes crioulas ou tradicionais (COELHO et al., 2010). A distribuição dessas variedades crioulas e o grande conjunto de nomes atribuídos contribuem para enriquecer o patrimônio varietal de feijão (PIERGIOVANNI; LAGHETTI, 1999).

A variabilidade genética é essencial para o sucesso de programas de melhoramento de todos os caracteres de importância econômica (SILVA et al., 2008; CABRAL et al., 2010). O conhecimento da diversidade genética permite a escolha do genótipo e do método de seleção adequado, em função dos recursos disponíveis e da distância genética entre os genótipos (SINGH, 2001). A maior parte dos atuais programas de melhoramento de feijoeiro no Brasil reconhece a importância de ampliar a diversidade genética, mantendo a rusticidade existente nas variedades locais (COELHO et al., 2005; FARIA et al., 2005; RODRIGUES, et al., 2005; RAMALHO; ABREU, 2006).

No estado do Espírito Santo encontra-se ampla diversidade de genótipos de feijão que atende tanto os caracteres morfológicos da semente como os caracteres agrônômicos (CABRAL et al., 2010; CABRAL et al., 2011). A produção de feijão no estado é predominantemente realizada em pequenas propriedades distribuídas em quase todas as regiões, evidenciando a importância dos genótipos crioulos de feijão como fonte de alimento e renda para a agricultura familiar.

Os estoques locais de sementes existentes em propriedades familiares representam um valor genético precioso para a manutenção da biodiversidade e segurança alimentar tanto das populações locais tradicionais, quanto de toda sociedade brasileira, que tem o feijão como um dos principais componentes da dieta (COPACHESKI, 2013). O cultivo desses genótipos proporciona a conservação dos recursos genéticos do feijão, e existe a possibilidade desta diversidade genética ser utilizada em programas de melhoramento, desde que detalhadamente caracterizadas para caracteres de interesse agrônômicos (COELHO et al., 2007; PEREIRA et al., 2009; CABRAL et al., 2011), qualidade tecnológica (COELHO et al., 2007), nutricionais (PEREIRA et al., 2011) e moleculares (MADAKBAS et al., 2016).

Várias técnicas envolvendo a análise de marcadores morfológicos e moleculares podem ser utilizadas para identificar e analisar materiais colhidos com o intuito de

caracterizar, discriminar e armazenar sementes em bancos de germoplasmas.

A diversidade genética em nível molecular pode ser caracterizada por meio de marcadores moleculares microssatélites (*Simple Sequence Repeats*), indicados por serem estáveis, amplamente distribuídos pelo genoma codominante e por possuírem alta capacidade de detectar polimorfismos (BHARGAVA; FUENTES, 2010). A diversidade genética de feijão comum tem sido avaliada em estudos com marcadores moleculares microssatélites verificando-se a existência de ampla diversidade genética em germoplasma de feijão (BURLE et al., 2011; MULLER et al., 2015; PERSEGUINI et al., 2015). Os marcadores SNPs (*Single Nucleotide Polymorphisms*) possuem como características sua estabilidade, alta frequência no genôma e facilidade de automatização (MARTIN et al., 2010). No feijoeiro, os marcadores SNPs têm sido amplamente utilizado para análises de diversidade e estrutura genética (MULLER et al., 2015; VALDISSIER et al., 2016).

As estimativas com base na morfologia podem ser mais influenciadas por fatores ambientais e o controle poligênico de várias características morfológicas ainda são desconhecidos (SHEHZAD et al., 2009; LAST et al., 2014). Entretanto, os caracteres morfológicos são muito importantes na avaliação de acessos, principalmente por refletirem o seu real potencial produtivo e a possibilidade de sua utilização de forma direta no melhoramento genético (VIEIRA et al., 2008), além de representarem os principais caracteres de interesse econômico.

Objetivou-se com este trabalho analisar o potencial dos recursos genéticos dos feijões cultivados no estado do Espírito Santo, predominantemente de cultivo de base familiar, bem como compará-los à cultivares comerciais de distintos programas de melhoramento do Brasil por meio de marcadores SSR, SNPs e caracteres morfológicos.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Análise da diversidade genética de feijões crioulos cultivado no estado do Espírito Santo em níveis molecular e morfoagronômico comparando-os a cultivares comerciais, visando à caracterização inicial e formação de uma coleção de trabalho que represente a diversidade local e indique genótipos com potenciais uso no melhoramento e conservação.

2.2 Objetivos Específicos

- Analisar a diversidade genética de feijões crioulos e comerciais cultivados no estado do Espírito Santo através de marcadores microssatélites;
- Caracterizar poi variáveis morfoagronômicas os acessos de feijões crioulos e comerciais que apresentam divergência com base na distância genética revelada por marcadores microssatélites;
- Analisar a diversidade genética de feijões crioulos e comerciais por marcadores SNPs;
- Comparar marcadores microssatélites e SNPs quanto à caracterização da estrutura e diversidade genética;
- Avaliar o potencial da coleção de trabalho como recurso genético.

3 REFERÊNCIAS

- ACOSTA-GALLEGOS, J.A. et al. Prebreeding in common bean and use of genetic diversity from wild germplasm. **Crop Science**, Madison, v.18, n.47, p.44-59, 2007.
- ANUÁRIO ABRASEM 2003. Associação Brasileira de Sementes e Mudanças. Brasília, 2003. 164p.
- BITOCCHI, E. et al. Beans (*Phaseolus* spp.) as a Model for Understanding Crop Evolution. **Frontiers in plant science**, v.8, p.722, 2017.
- BITOCCHI, E. et al. Mesoamerican origin of the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) is revealed by sequence data. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, vol, 109, n. 14, p. 5148–5149, 2012.
- BURLE, M. L. et al. Microsatellite diversity and genetic structure among common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) landraces in Brazil, a secondary center of diversity. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 121, n. 5, p. 801-813, 2010.
- CABRAL, P. D. S. et al. Diversidade genética de acessos de feijão comum por caracteres agronômicos. **Revista Ciência Agronômica**, v. 42, n. 4, p. 898-905, 2011.
- CABRAL, P. D. S. et al. Genetic diversity in local and commercial dry bean (*Phaseolus vulgaris*) accessions based on microsatellite markers. **Genetics and Molecular Research**, v. 10, n. 01, p. 140-149, 2011.
- CABRAL, P. D. S. et al. Quantification of the diversity among common bean accessions using Ward-MLM strategy. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 45, n. 10, p. 1124-1132, 2010.
- CARNEIRO, J. C. S. et al. Perfil sensorial e aceitabilidade de cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 25, n. 1, p. 18-24, 2005.
- COELHO, C. M. M. et al. Diversidade genética em acessos de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). **Ciência Rural**, v. 37, n. 5, p. 1241-1247, 2007.
- COELHO, C. M. M. et al. Potencial fisiológico em sementes de cultivares de feijão crioulo (*Phaseolus vulgaris* L.). **Revista Brasileira de Sementes**, v. 32, n. 3, p. 097-105, 2010.
- COELHO, C. M. M.; TSAI, S. M.; VITORELLO, V. A. Dynamics of inositol phosphate pools (tris-, tetrakis- and pentakisphosphate) in relation to the rate of phytate synthesis during seed development in common bean (*Phaseolus vulgaris*). **Journal of plant physiology**, v. 162, n. 1, p. 1-9, 2005.
- COPACHESKI, M. et al. Revitalização de sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris*) submetidas a tratamentos homeopáticos. **Cadernos de Agroecologia**, v. 8, n. 2, 2013.
- CORDEIRO, A.; MARCATTO, C. Milho: a volta das variedades crioulas. In: GAIFANI, A.; CORDEIRO, A. (Org). Cultivando a diversidade: recursos genéticos e segurança alimentar. Rio de Janeiro: Assessoria e Serviços a Projetos em Agricultura Alternativa, 1994. 205p.
- DE LA FUENTE, M. et al. In-depth characterization of the phaseolin protein diversity of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) based on two-dimensional electrophoresis and mass spectrometry. **Food Technol Biotechnol**, v. 50, p. 315-25, 2012.
- DEBOUCK, D. Systematics and morphology. In: SCHOONHOVEN, A. van, VOYSESR,

- O.(eds.). **Common beans – Research for crop improvement**. Cali, CAB International, CIAT, p.55-118, 1993.
- DELFINI, J. et al. Distinctness of Brazilian common bean cultivars with carioca and black grain by means of morphoagronomic and molecular descriptors. **PLoS one**, v.12, n.11, p.188-798. 2017.
- DELGADO-SALINAS, A.; BIBLER, R.; LAVIN M. Phylogeny of the genus *Phaseolus* (Leguminosae): a recent diversification in an ancient landscape. **Systematic Botany**, v.31, p. 779–791, 2006.
- DINIZ, A. L et al. Nucleotide diversity based on phaseolin and iron reductase genes in common bean accessions of different geographical origins. **Genome**, v. 57, n. 2, p. 69-77, 2014.
- FAO. **Faostat. Crops**. 2017. Disponível em:<<http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>>. Acesso em: 10 jan. 2018.
- FONSÊCA, A. et al. Cytogenetic map of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Chromosome Research**, v. 18, p. 487-502, 2010.
- GEPTS, P. et al. Phaseolin-protein variability in wild forms and landraces of the common bean (*Phaseolus vulgaris*): evidence for multiple centers of domestication. **Economic botany**, v. 40, n. 4, p. 451-468, 1986.
- KWAK, M.; GEPTS, P. Structure of genetic diversity in the two major gene pools of common bean (*Phaseolus vulgaris* L., Fabaceae). **Theoretical and Applied Genetics**, v. 118, n. 5, p. 979-992, 2009.
- LAST, L. et al. Indicators for genetic and phenotypic diversity of *Dactylis glomerata* in Swiss permanent grassland. **Ecological Indicators**, v. 38, p. 181-191, 2014.
- MADAKBAŞ, S. Y. et al. Genetic Characterization of Green Bean (*Phaseolus vulgaris*). **Biochemical genetics**, v. 54, n. 4, p. 495-505, 2016.
- MARTIN, L. C. **Identificação de SNPs (Single Nucleotide Polymorphisms) no gene colina monooxigenase relacionado ao metabolismo da glicina betaína em Eucalyptus**. 2010. 90 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas – Genética) - Instituto de Biociências da UNESP – Campus de Botucatu, 2010.
- MÜLLER, B. S. F. et al. An operational SNP panel integrated to SSR marker for the assessment of genetic diversity and population structure of the common bean. **Plant molecular biology reporter**, v. 33, n. 6, p. 1697-1711, 2015.
- PEREIRA, T. et al. Diversidade no teor de nutrientes em grãos de feijão crioulo no Estado de Santa Catarina. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 33, n. 3, 2011.
- PEREIRA, T. et al. Diversity in common bean landraces from South-Brazil. **Acta Botanica Croatica**, v. 68, n. 1., p. 79-92, 2009.
- PERSEGUINI, J. M. K. C. et al. Developing a common bean core collection suitable for association mapping studies. **Genetics and molecular biology**, v. 38, n. 1, p. 67-78, 2015.
- PETRY, N. et al. Review: The potential of the common bean (*Phaseolus vulgaris*) as a vehicle for iron biofortification. **Nutrients**, v. 7, p.1144–1173, 2015.
- PIERGIOVANNI, A. R.; LAGHETTI, G. The common bean landraces from Basilicata

- (Southern Italy): an example of integrated approach applied to genetic resources management. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 46, n. 1, p. 47-52, 1999.
- RAGGI, L.; TIRANTI, B.; NEGRI, V. Italian common bean landraces: diversity and population structure. **Genetic resources and crop evolution**, v. 60, n. 4, p. 1515-1530, 2013.
- RAMALHO, M., A., P.; ABREU, F., B. Cultivares. In: VIEIRA, C. **Feijão**. 2. ed. Viçosa: UFV, 2006. p. 415-436.
- RODIÑO, A. P. et al. Ancestral landraces of common bean from the South of Europe and their agronomical value for breeding programs. **Crop science**, v. 49, n. 6, p. 2087-2099, 2009.
- RODRIGUE, J. A. et al. Correlação entre absorção de água e tempo de cozimento de cultivares de feijão. **Ciência Rural**, v. 35, n. 1, p. 209-214, 2005.
- SANTOS, J. B. et al. (Ed.). **Feijão**. Viçosa: UFV, 2. ed. 2006. 41-66p;
- SCHMUTZ, J. et al. A reference genome for common bean and genome-wide analysis of dual domestications. **Nature genetics**, v. 46, n. 7, p. 707, 2014.
- SHEHZAD T. et al. 2009. Development of SSR-based sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) diversity research set of germplasm and its evaluation by morphological traits. **Genetic resources and crop evolution**, v. 56, n. 6, p. 809-827, 2009.
- SILVA, G. D. et al. Importância de caracteres na dissimilaridade de progênies de batata em gerações iniciais de seleção. *Bragantia*, v. 67, n. 01, p. 141-144, 2008.
- SINGH, S. P. Broadening the genetic base of common bean cultivars. **Crop Science**, v. 41, n. 6, p. 1659-1675, 2001.
- VALDISSER, P. A. M. R et al. SNP discovery in common bean by restriction-associated DNA (RAD) sequencing for genetic diversity and population structure analysis. **Molecular genetics and genomics**, v. 291, n. 3, p. 1277-1291, 2016.
- VIEIRA, C.; PAULA JÚNIOR, T.J. de; BORÉM, A. **Feijão**. 2 ed, Viçosa, 600 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.

CAPÍTULO I - Caracterização de feijão crioulo e comerciais, cultivados no estado do Espírito Santo, utilizando marcadores microssatélites e variáveis morfoagronômica

Resumo. O feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L., Fabaceae) é uma das leguminosas mais importantes do gênero *Phaseolus*, sendo o tipo crioulo o mais cultivado na agricultura familiar e de interesse ao melhoramento genético, como recurso genético. Objetivou-se com esse estudo a caracterização de feijões crioulos, por marcadores SSR e variáveis morfoagronômicas, bem como compará-los à cultivares comerciais. No total 185 acessos (158 crioulos e 27 comerciais) foram avaliados por SSR e posteriormente 50 acessos (37 crioulo e 13 cultivares comerciais) foram avaliados por 12 variáveis morfoagronômicas. Três experimentos foram conduzidos em campo em blocos casualizados com três repetições dos quais um em Alegre, ES (2017) e dois em Mimoso do Sul, ES (2017/2018). Os estimadores de diversidade genética heterozigosidade esperada, número alélico, alelos privados e raros, apresentaram maior magnitude nos acessos crioulos, indicando o potencial destes acessos como um reservatório de alelos raros e privados em comparação com os estoques comerciais. Dez grupos foram observados na análise de agrupamento, dos quais um grupo apresentou 89% dos acessos (138 crioulos e todos os comerciais). Em relação a caracterização morfoagronômica os acessos Verde-111, Branco-110, Pérola-102, Preto13-69, Feijão rainha-18, Branco-05 apresentaram elevados níveis de produtividade (acima de 3.000 kg.ha⁻¹) e seis grupos foram formados, dos quais um composto por 56,10% acessos crioulos e 96,3% dos cultivares comerciais. A maioria dos acessos crioulos e cultivares comerciais alocaram-se em um mesmo grupo, sugerindo que os crioulos possuem características de interesse, dado que os comerciais já passaram por algum processo de melhoramento genético. A variabilidade detectada nos crioulos é de importância na estratégia, dada a seleção realizada pelos agricultores para materiais adaptados as suas condições locais. Dessa forma, é indicado o desenvolvimento de políticas para apoiar a conservação do feijoeiro em propriedades rurais como medida para preservar a diversidade.

Palavras-chave: Melhoramento genético. *Phaseolus vulgaris* L. Simple Sequence Repeat. Recursos Genéticos. Variabilidade. Análises multivariadas.

CHAPTER I - Characterization of common bean landraces and commercial grown in the state of Espírito Santo using microsatellite markers and morpho agronomic variables

Abstract. The common bean (*Phaseolus vulgaris* L., Fabaceae) is one of the most important legumes of the genus *Phaseolus*, being the common bean landrace most cultivated in family agriculture and are worthy of mention because they have genes of interest for breeding. In this context, the objective of this study was the characterization by SSR markers and morphoagronomic variables of beans landraces comparing them with commercial cultivars. A total of 13 SSRs were evaluated in 185 accessions (158 landraces and 27 commercial ones) and of these 50 accessions (37 landraces and 13 commercial cultivars) were evaluated by 12 morphoagronomic variables, conducted in three randomized blocks with three replicates, one in Alegre, ES (2017) and two in Mimoso do Sul, ES (2017/2018). The mean polymorphic information content of SSRs was 4.46, characterizing them as moderately informative. The expected heterozygosity (H_e), allele number (A), private (AP) and rare (RA) alleles was observed in greater magnitude in the landraces accesses (landraces, $H_e = 0.50$, A = 5, AP = 29, 30, commercial, $H_e = 0.42$, A = 2.92, AP = 2, AR = 8), demonstrating that landraces accesses potentially represent a reservoir of rare and private alleles compared to commercial stocks. The UPGMA divided the accesses into 10 main groups, of which the tenth group was formed by 89% of accesses (138 landraces and all commercials). In relation to the morphoagronomic characterization, the accessions Green-111, White-110, Pearl-102, Black 13-69, Bean queinha-18, White-05 presented high levels of productivity (above 3,000 kg.ha⁻¹) and can be incorporated to crop improvement programs or suggested to farmers. For the UPGMA, six groups were formed, the one composed of 96.30% of the commercial cultivars. Most of the landrace accesses and commercial cultivars were placed in the same group, suggesting that the landraces have characteristics of interest, since the commercials have already undergone some process of genetic improvement. The variability among the criollos is of fundamental importance in the strategy of survival of the farmers, as they select the materials adapted to their local conditions. Thus, the development of policies to support the conservation of common bean in rural properties is indicated as a measure to preserve diversity.

Keywords: Genetic improvement. *Phaseolus vulgaris* L. Simple Sequence Repeat. Genetic Resources. Variability. Multivariate analyzes.

1 INTRODUÇÃO

O feijão comum (*Phaseolus vulgaris*: Fabaceae) é uma leguminosa de grande importância socioeconômica em diversos países da América Latina, África e Ásia, nos quais é consumido como alimento básico por grande parte da população (AKIBODE; MAREDIA 2011; BEEBE, 2012). O Brasil destaca-se como o terceiro maior produtor, com produção de ~2,6 milhões de toneladas (FAO, 2017). O feijão comum é cultivado na maioria dos estados brasileiros, nas mais variadas condições edafoclimáticas e em diferentes épocas e sistemas de cultivo. Constitui-se numa fonte importante de proteína, fibra alimentar e carboidratos complexos, especialmente para os grupos de baixa renda (CASTRO-ROSAS et al., 2015; SANTIAGO-RAMOS et al., 2018).

A espécie é predominantemente autógama com taxas de fecundação cruzada de menos de 5% (GRAHAM; RANALLI, 1997). Possui genoma diploide com 11 cromossomos ($2n = 2x = 22$) e tamanho estimado de ~587 Mpb (BENNETT; LEITCH 1995, SCHMUTZ et al., 2014). Originou-se na Mesoamérica (BITOCCHI et al., 2012) e em seguida passou por dois eventos de domesticação independentes dando origem aos principais reservatórios gênicos da espécie, o pool gênico mesoamericano e andino (GEPTS et al., 1986; BITOCCHI et al., 2013). As variedades são bem definidas dentro de cada pool gênico devido a uma divergência com ocorrência estimada há ~165.000 anos (SCHMUTZ et al., 2014). Os genótipos do pool gênico andino geralmente possuem grãos grandes, enquanto o mesoamericano apresentam grãos pequenos ou médios (EVANS 1973; 1980).

Durante milênios de anos o melhoramento de plantas foi realizado por agricultores de forma empírica o que levou a formação de estoques locais de semente, ou seja, feijões crioulos. As variedades crioulas de feijão do Brasil são extremamente diversas devido a diferentes ambientes, múltiplos sistemas de produção e preferências do agricultor (BERTOLDO et al., 2014). O Brasil é considerado um centro secundário de diversificação devido ao sucesso do cultivo de feijão no país (BURLE et al., 2010). No cenário nacional, o feijão é caracterizado pela agricultura familiar, e o percentual de uso de sementes melhoradas não ultrapassa 19% (ABRASEM, 2015). Sendo portanto considerada uma alternativa econômica com potencial de expansão, visto que em 99,08% das fazendas são plantados cerca de 50 hectares com feijão, em 0,77% são plantados de 50 a 200 hectares e em 0,15% são plantados com mais de 200 hectares (SILVA; WANDER, 2013).

No Espírito Santo a produção de feijão é relevante, sendo 80% dos municípios dependentes das atividades agrícolas com destaque à agricultura familiar, o que propicia a

ocorrência de genótipos crioulos. Esse aspecto é importante, considerando que os crioulos podem ser um reservatório de diversidade genética e rusticidade (BURLE et al., 2010), contribuindo para enriquecer o patrimônio varietal. Estudos têm identificado maior diversidade dentro do grupo de acessos crioulos do que nos cultivares comerciais, enfatizando a importância de tais variedades como fontes de variação genética para a cultura (MACIEL et al., 2003; PERSEGUINI et al., 2016; CARIAS et al., 2018).

Os feijões crioulos podem apresentar tolerância a estresses bióticos e abióticos e ser portadores de genes relacionados a vários atributos de qualidade, representando um valor genético precioso para a manutenção da segurança alimentar e biodiversidade, e sua preservação e avaliação são indispensáveis nos programas de melhoramento genético da cultura (NEGRI et al., 2009, SIFRES et al., 2011). Além disso, alguns acessos têm atributos específicos (tamanho, cor e forma de grãos) desejados pelos consumidores que algumas vezes pagam mais por esses produtos (NEGRI; TOSTI, 2002; MUREKEZI et al., 2017).

A diversidade genética de crioulos torna-os um valioso recurso, pois esses podem ser potenciais genitores para orientação de cruzamentos e desenvolvimento de novos cultivares. Para identificação e estimativa, vários métodos podem ser utilizados, incluindo marcadores moleculares e variáveis morfoagronômicas. A combinação de dados moleculares e morfológicos pode ser mais objetiva e precisa para avaliar a variação genética, o que tem sido relatado em inúmeros estudos (TURCHETTO et al., 2014; DELFINO et al., 2017).

Os marcadores moleculares baseados em DNA fornecem uma boa estimativa da diversidade genética, uma vez que são quase ilimitados em número e não são influenciados pelo ambiente (NAGHAVI et al., 2009; AMBADE et al 2015). A descoberta e o uso de marcadores moleculares oferecem grande oportunidade para entender e identificar material genético diversificado em espécies agrícolas (KAPOOR; CHOUDHARY, 2017). Entre os marcadores moleculares os microssatélites apresentam elevado grau de polimorfismo, estabilidade, facilidade de manuseio, rapidez e reprodutibilidade (ELLEGRÉN, 2004; KUMAR et al., 2009; VIEIRA, 2016). Também são usados com sucesso em feijão para determinar a diversidade genética e estrutura populacional, o que revelou ampla variabilidade e confirmou a existência de variedades dentro de cada pool gênico (BLAIR et al., 2009; KWAK et al., 2009; BECERRA; COLS, 2010; GIOIA, et al., 2019).

Os marcadores morfoagronômicos são cruciais durante o pré e pós-melhoramento nos estudos de variação genética em feijão comum (CABRAL et al, 2011, OSEI et al. 2014, OKII et al., 2017, CARIAS et al, 2018, NGEZAHAYO et al 2019, SINKOVII et al., 2019), uma vez que são utilizados como ferramentas para a análise indireta da diversidade genética,

refletindo o real potencial produtivo da planta, possibilitando seu uso de forma direta no melhoramento (VIEIRA et al., 2008).

Nessa perspectiva, objetivou-se com este trabalho caracterizar uma coleção de trabalho por meio de marcadores moleculares microssatélites e morfoagronômicos de acessos crioulos de feijão cultivados no Espírito Santo e compará-los a genótipos comerciais oriundos de diferentes programas de melhoramento.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material vegetal

Trezentos e cinquenta e cinco acessos de *Phaseolus* spp. pertencentes à coleção de trabalho do grupo de pesquisa Biometria e Melhoramento da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES) foram obtidos a partir de uma pesquisa de base nos anos de 2016 e 2017. Dos quais 46 são cultivares comerciais que foram cedidos pelo Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural (Incaper), e 47 pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa) e os demais (262) foram acessos crioulos colhidos em propriedades rurais, mercados locais e feiras públicas por meio de visitas técnicas dos membros do grupo de pesquisa da Ufes e Incaper.

Do total de acessos, 185 compuseram esse trabalho e tiveram como critério de seleção: 1) espécie *P. vulgaris* L.; 2) viabilidade das sementes; e 3) representatividade dos principais tipos comerciais (preto, vermelho e carioca). Estes incluem 27 cultivares comerciais que procedem de linhas de programas de melhoramento genético brasileiros incluindo: 23 cultivares da Embrapa Arroz e Feijão (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Arroz e Feijão); um do IAPAR (Instituto Agrônômico do Paraná); e três do Incaper. Os demais 158 acessos são crioulos, dos quais 91 possuem informação de local de cultivo e os demais oriundos de coletas anteriores no estado do Espírito Santo que não tiveram a identificação do município de origem (Apêndice 1, Figura 1).

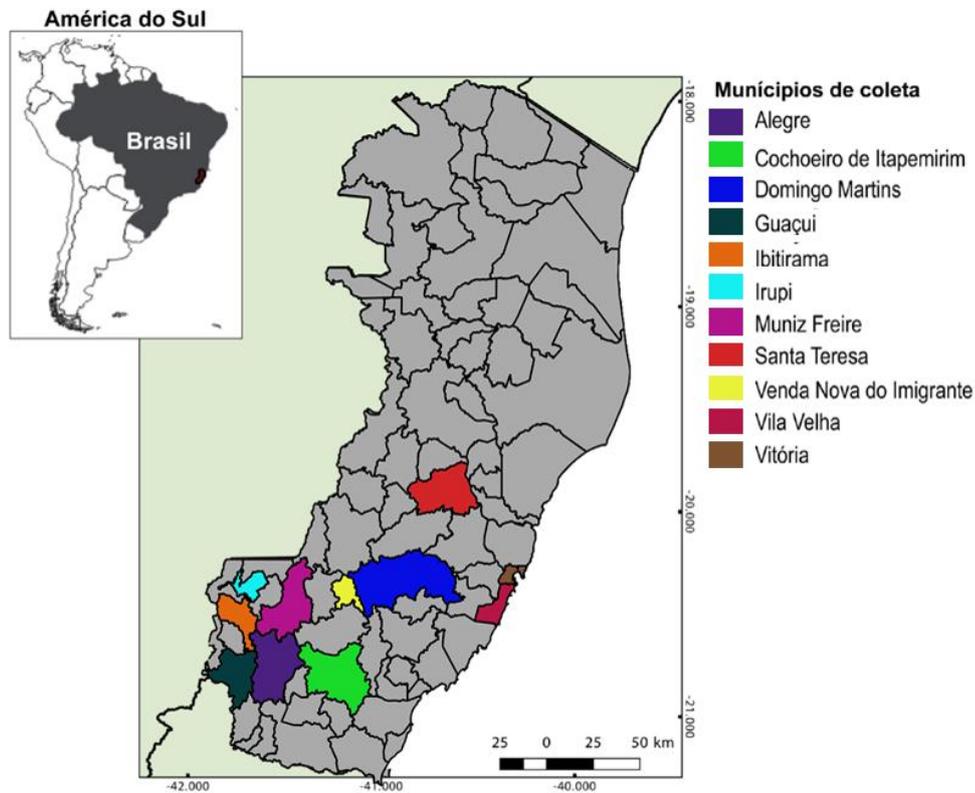


Figura 1. Municípios do estado do Espírito Santo onde foram colhidos 91 acessos de feijão crioulo. Alegre (42 acessos); Cachoeiro de Itapemirim (1), Domingos Martins (7), Guaçuí (16), Ibitirama (2), Irupi (5), Muniz Freire (4), Santa Angélica (3), Santa Tereza (4), Venda Nova (2), Vila Velha (2), Vitória (3).

A diversidade genética por meio de marcadores microsatélites foi avaliada nos 185 acessos. Posteriormente após a análise da variabilidade genética existente, 50 acessos foram selecionados para a caracterização morfoagronômica. Os 50 acessos foram selecionados de acordo com: 1) representatividade de um subconjunto de feijões comum altamente variáveis; 2) qualidades organolépticas no mercado regional; 3) ser amplamente cultivadas pelos agricultores nas principais áreas de cultivo; e 4) quantidade de sementes suficientes para serem submetidos a experimento em campo (Tabela 1).

Tabela 1. Feijões selecionados para caracterização morfoagronômica em experimentos de campo. Nome, grupo comercial, municípios de coleta, peso de 100 grãos e hábito de crescimento dos acessos de feijão comum, colhidos e cultivados no estado do Espírito Santo.

Nome	Grupo comercial	Municípios de coleta	P100	Hábito de crescimento****
Feijão crioulo				
Amarelo-133	Bolinha	Linhagem	29,21	Determinado
Amendoim-14	Rajado	Guaçuí	34,82***	Determinado
Amendoim-42	Vermelho	**	34,47***	Indeterminado
Bege-135	Jalo	Santa Teresa	38,28***	Indeterminado
Bico de ouro-12	Vermelho	Muniz Freire	23,85	Indeterminado
Bico de Ouro-120	Vermelho	Guaçuí	25,55	Indeterminado
Bico de Ouro-128	Vermelho	Irupi	22,03	Indeterminado
Branco-110	Branco	Domingos Martins	30,80***	Indeterminado
Branco-5	Branco	Vitória	58,28***	Indeterminado
Carioca Vermelho-168	outro*	Alegre	19,00	Indeterminado
Carioca-105	Carioca	Domingos Martins	26,97	Indeterminado
Enxofre-13	outro*	Muniz Freire	17,47	Indeterminado
Feijão 04-149	outro*	**	21,61	Determinado
Feijão rainha-18	Rajado	**	29,49	Indeterminado
Feijão Verde-26	outro*	Alegre	32,38***	Indeterminado
Manteiga bege claro-3	Jalo	Vitória	46,30***	Determinado
Marrom-112	Mulatinho	Santa Angélica	22,52	Indeterminado
Nº 10 Quadrado-156	Vermelho	**	27,56	Indeterminado
Ouro Vermelho-117	Vermelho	**	23,71	Indeterminado
Palhacinho-1	outro*	Vila Velha	35,58***	Determinado
Preto 13 (09)-69	Preto	**	20,49	Determinado
Preto-104	Preto	Domingos Martins	32,87***	Determinado
Preto-118	Preto	Venda Nova	19,17	Indeterminado
Preto-4	Preto	Vitória	19,27	Indeterminado
Vagem riscada-10	Preto	Muniz Freire	17,20	Indeterminado
Vagem riscada-11	Preto	Muniz Freire	18,73	Determinado
Vagem riscada-172	Preto	Alegre	18,17	Indeterminado
Vagem riscada-8	Preto	Alegre	16,37	Indeterminado
Vagem riscada-92	Preto	Alegre	24,82	Indeterminado
Verde 02-68	outro*	**	23,11	Indeterminado
Verde Cristo Rei 01-81	outro*	**	28,52	Determinado
Verde-109	outro*	Guaçuí	30,77***	Determinado
Verde-111	outro*	Santa Angélica	38,21***	Indeterminado
Verde-114	outro*	**	24,09	Indeterminado
Vermelho-132	Vermelho	Santa Teresa	34,78***	Determinado
Vermelho-174	Vermelho	Alegre	24,43	Indeterminado
Vermelho-19	Vermelho	Iúna	19,17	Indeterminado
Vermelho-9	Vermelho	Alegre	20,85	Determinado
Cultivares comerciais				
BRS Esplendor-30	Preto	Cultivar	18,92	Indeterminado
BRS Estilo-24	Carioca	Cultivar	27,86	Indeterminado
BRS Notável-23	Carioca	Cultivar	22,15	Indeterminado
CNFC 15462-21	Carioca	Linhagem	21,28	Indeterminado
CNFC 15625-20	Carioca	Linhagem	27,10	Indeterminado
CNFP 15304-32	Preto	Linhagem	25,45	Indeterminado
IPR Colibri-25	Carioca	Cultivar	25,99	Indeterminado
IPR Uirapuru-89	Preto	Cultivar	24,90	Indeterminado
Notável-150	Carioca	Cultivar	21,77	Indeterminado
Pérola-22	Carioca	Cultivar	25,54	Indeterminado
Emcapa 404 Serrano-180	Preto	Cultivar	19,61	Indeterminado
Supremo-181	Preto	Cultivar	25,50	Indeterminado

* tipo comercial não identificado; ** sem identificação do município de coleta; *** peso de 100 grãos > 30g; **** Hábito de crescimento foi determinado de acordo com as orientações do Centro

Internacional de Agricultura Tropical (CIAT).

2.3 Diversidade genética por marcadores microssatélites

Sementes de cada genótipo foram submetidas à germinação em areia, visando à obtenção de tecidos foliares para a extração de DNA genômico. A extração do DNA foi feita em uma planta individual de cada acesso conforme o método CTAB (Brometo de cetil-trimetil amônio) (DOYLE; DOYLE, 1990). As concentrações e integridade do DNA foram estimadas com o uso de espectrofotômetro *Nanodrop*TM 2000 (*Thermo Scientific*).

Um conjunto de 39 pares de *primers* microssatélites foram selecionados por representarem *loci* com alto conteúdo de informação polimórfica (PIC) e distribuição no genoma (BENCHIMOL et al., 2007; GAITÁN-SOLÍS et al., 2002; HANAI et al., 2007; GARCIA et al., 2011). Estes foram testados em 10 acessos de feijão, dos quais 13 marcadores apresentaram uma boa consistência de amplificação e polimorfismo, os quais foram utilizados nos demais acessos. Dos 13 marcadores, seis foram genômicos (GAITÁN-SOLÍS et al., 2002; BENCHIMOL et al., 2007) e sete foram derivados de regiões expressas de EST (HANAI et al., 2007; GARCIA et al., 2011) (Tabela 2).

Tabela 2. Informações dos 13 *loci* microsátélites utilizados.

Código	Sequências dos pares de primers	Motivo	Tm	TP	GL	Referência
Genômico						
SSR-IAC04	F: GGGGGTGGGATGAATGGA R: CAATCGGACCTGAACAATGAAA	(AG)25	Touch dow: 60°-56	240	2	1
SSR-IAC10	F: AGGAACTAAAAGCCGAACTGG R: GCCTCCGCCGATCAACACTA	(AC)7	Touch dow: 60°-56	262	4	1
SSR-IAC22	F: TGCAAACCAAACCAAACA R: GGGAAATGCAGGCTTAGAA	(TA)8 (GA)9	60°C	138	8	1
SSR-IAC54	F: CTTTTGCCTTGTTTGGAGAG R: CACCCTGTTGCATTGACTTAG	(AC)6CAA(TA)3C(AT)5	62°C	156	10	1
BM212	F: AGGAAGGGATCCAAAGTCACTC R: TGAACCTTCAGGTATTGATGAATGAAG	(CA)13	60°C	214	10	2
BM213	F: AACCTAAGCTTCACGCATTTG R: GAGAGATTGACGACGGTTT	(CTT)4(CT)5(CTT)(CT)(CTT)(CT)4	60°C	154	1	2
SSR-EST						
PvM02	F: CGCCATTTGGATTGGATT R: AGGCGTGGGAAGTGGAGTG	(CTT)6	60°C	191	—	3
PvM03	F: CCGCCTTCTTCTTCTTCTTC R: CGGCGAGTCATCTTTTCC	(TTC)6	62°C	167	—	3
PvM30	F: GCAGACCCTGTCAACAACAA R: GCCATGAAGCAAGGTGAAGA	(GTT)5	60°C	222	—	3
PVEST030	F: GAGGAAACCAGAAATGCTTGAC R: GTTTTATGACAAAGATTTTGCTGC	(TA)6	62°C	188	2	4
PVEST017	F: TTCTCCTTCTCCTTCTCCTCCT R: CGGAATACCCTTTCACCTTCTTG	(TCT)9 (T)8	Touch dow: 60°-56	198	10	4
PVEST008	F: ATGATGAGGAAATATTGGTGGC R: GTGAAGGGGAAGAGAAAAGGTT	(AG)17	60°C	188	2	4
PVEST098	TCTTTAACAGCGCACACACTTT GTTGAAACGACAGTAGGAACC	(CTT)7	60°C	134	8	4

GL: grupo de ligação; TA: temperatura de alinhamento; TP: tamanho alélico (pb); 1: BENCHIMOL et al., 2007; 2: GAITÁN-SOLÍS et al., 2002; 3: HANAI et al., 2007; 4: GARCIA et al., 2011.

As reações de PCR foram feitas com um volume final de 15 µl contendo 50 ng de DNA genômico, 1X tampão (10 *Phoneutria*® - 500 mM KCl, 100 mM Tris-HCl pH 8,4, 1% Triton X-100) 0,15 µM de Primer (*Invitrogen*®), 1,5 mM de MgCl₂ (*Phoneutria*®), 0,15U de Taq DNA polimerase (*Phoneutria*®) 0,25 mM de DNTP (*Invitrogen*®). As amplificações ocorreram em termociclador *Veriti*TM 96-Well Thermal Cycler (*Thermo Scientific*®) sob as seguintes condições: 94 °C por 4 min; 30 ciclos de 94 °C por 0,45 min, temperatura de anelamento (Tabela 2) por 1 min, 72 °C por 1 min; e 72 °C por 8 min. Os produtos de amplificação foram separados por eletroforese em géis de poliacrilamida a 10%. Como padrão utilizou-se o marcador de peso molecular de 100 pb (*Kasvi*, *K9-100 L*). Após a eletroforese os géis foram corados com *GelRed*® *Nucleic Acid Gel Stain - Biotium* (1,33X) e visualizados por sistema de fotodocumentação (*BioRad Gel Doc*TM *EZ Imager*). As imagens foram processadas e as bandas foram analisadas com o software *Image Lab 6.0* (*Bio-Rad Laboratories Inc.*) para estimação do tamanho dos fragmentos dos produtos de PCR.

2.4 Caracterização morfoagronômica

Um experimento foi realizado na Área Experimental do Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo no município de Alegre, ES (latitude de 20°45'S e longitude 41°31'W e 138 metros de altitude) (semeadura em março de 2017 e colheita em junho de 2017) e dois em área particular no município de Mimoso do Sul, ES (latitude de 21°01'S e longitude 41°17'W e 250 metros de altitude) (semeadura em abril e setembro de 2017 e colheita julho de 2017 e janeiro de 2018, respectivamente).

Os meses compreendidos na realização do trabalho foram caracterizados por uma estação com chuvas abaixo do normal esperado e ainda com má distribuição espacial, em que a distribuição espaço-temporal da precipitação foi irregular, acarretando num regime pluviométrico de baixa qualidade (INCAPER, 2017a; 2017b; 2018).

O delineamento utilizado foi o em blocos casualizados com três repetições e parcelas compostas de quatro linhas de 1,2 m de comprimento, 0,5 m entre fileiras e 10 sementes por metro linear, com área útil de 2,4 m². Foram consideradas como bordadura, a primeira e a última linha e a primeira e última planta de cada linha central por parcela. A parcela útil foi constituída por 10 plantas ao acaso. Os tratos culturais foram realizados de acordo com as recomendações para a cultura (VIEIRA et al., 2006; CARNEIRO et al., 2015).

Os acessos foram avaliados com 12 descritores morfoagronômicos pós-colheita, selecionados de acordo com a lista de descritores mínimos para a cultura do feijão na

Inscrição no Registro Nacional de Cultivares (RNC) preconizada no Decreto no 2.366 de 5 de novembro de 1997 (BRASIL, 1997), também com base na literatura (COLLICCHIO et al., 1997; NIETSCHE, 2000), tendo com enfoque a qualidade tecnológica, manejo e produção, bem como informações obtidas por meio de questionários respondidos pelos produtores no momento da coleta dos acessos. As características avaliadas foram: diâmetro do caule (DIAM), obtido em mm com avaliação realizada a 2cm do solo com paquímetro digital; altura da planta (ALT), determinada em cm pela distância entre o colo e a última folha completamente expandida; número de nós à colheita (NN), número de racemos (NR) e número de racemos produtivos (NRP), avaliados pela média de 10 plantas desde a base até à primeira inflorescência; altura da primeira vagem (APV), mensurada em cm com base na distância entre o colo e a inserção da primeira vagem; número de vagens por planta (NVP), número de lóculos por planta (NLP) e número de sementes por planta (NSP), média aferido em cada uma das 10 plantas à densidade de cultura; massa de grãos por planta (MG), em g planta⁻¹ determinado pela média do peso das sementes de 10 plantas utilizando balança de precisão; peso em gramas de 100 grãos (P100), avaliado em g de 100 sementes até à segunda casa decimal à umidade de 12-14%; rendimento de grãos (RG) estimada em kg ha⁻¹ utilizando o peso total de sementes das 10 plantas x 10 (número de plantas avaliadas) / área útil, transformando para kg.ha⁻¹.

2.5 Análise dos dados moleculares

A diversidade genética foi mensurada pelos parâmetros: número médio de alelos por *loci* ($A/loci$); heterozigosidade esperada (H_e); heterozigosidade observada (H_o); alelos privados (AP) e alelos raros (AR) pelo software GENES (CRUZ et al., 2013).

Índice de fixação de Wright (F) foi calculado de acordo com a fórmula:

$$F = 1 - \frac{H_o}{H_e}$$

Onde, H_e é a frequência de heterozigotos numa população sujeita ao acasalamento entre aparentados e H_o é a frequência de heterozigotos numa população sujeita ao equilíbrio de Hardy-Weinberg (dada por $2pq$, quando se considera apenas dois alelos por *loci*).

O conteúdo de informação polimórfica (PIC) foi calculado de acordo com a fórmula:

$$PIC = 1 - \sum_j p_{ij}^2$$

Onde, p_{ij} é a frequência do alelo p do loco i , no primer j .

A matriz de Dissimilaridade foi estimada pelo índice de dissimilaridade de correspondência simples com 1.000 interações bootstrap, implementada no programa DARwin 5.0 (PERRIER; JACQUEMOUD-COLLET, 2006) de acordo com:

$$d_{ij} = 1 - \frac{1}{L} \sum_{l=1}^L \frac{m_l}{\pi}$$

onde: d_{ij} : dissimilaridade entre as unidades i e j ; L : número de loci; m_l : número de alelos correspondentes para locus l ; e π : ploidia.

Os acessos então foram agrupados hierarquicamente com o método *Unweighted Pair-Group Method With Arithmetic Means* (UPGMA) e o ponto de corte foi determinada pelo método proposto por Mojema (1977). Além disso, foi realizada uma análise de coordenadas principais (PCoA) pelo software GenAIEx 6.5 (PEAKALL; SMOUSE, 2007).

Uma análise de agrupamento *Bayesiano* foi realizada no software STRUCTURE 2.3.4. (PRITCHARD et al., 2000), sem nenhuma informação de grupos *a priori*. O conjunto do número de corridas foi executado com um *burnin* de 500.000 interações, seguindo por 1.000.000 iterações MCMC (Monte Carlo Markov Chain), com 10 simulações independentes. Os valores de K testados variaram de 1 a 10. Para encontrar o melhor K foi usado o método ΔK de Evanno et al. (2005), implementado no STRUCTURE HARVESTER (EAR; VONHOLDT, 2011).

2.6 Análises dos dados morfoagronômicos

Os dados obtidos foram submetidos à análise multivariada da variância (MANOVA) com teste de aleatorização utilizando 10.000 permutações, considerando $\alpha \leq 0,05$. Esta análise fornece resultados da análise conjunta de todas as variáveis utilizadas e é baseada na soma de quadrados, onde o critério do teste é a dissimilaridade da soma de quadrados entre grupos (PILLAR; ORLOCI, 1996).

Posteriormente, foi estimada a matriz de coeficientes de correlação linear de Pearson (r) entre as características analisadas, e a significância foi verificada pelo teste t de Student em nível de 5% de probabilidade. Também foi realizada uma análise de multicolinearidade e a importância relativa das variáveis quantitativas (S_j) foi analisada pelo método de Singh (1981). Estas análises foram realizadas pelos software GENES (CRUZ et al., 2013).

Os dados morfoagronômicos foram submetidos a análises multivariadas, considerando a média das cultivares nos três ambientes. A distância generalizada de Mahalanobis (D^2) foi

obtida a partir das matrizes de variâncias e covariâncias residuais. Em seguida, foi realizada uma análise de agrupamento hierárquico UPGMA e os grupos foram definidos pelo método não hierárquico k-means (MACQUEEN, 1967). Estas análises foram realizadas pelo software R (TEAM, 2018).

Uma análise de componentes principais (PCA) foi realizada com o objetivo de verificar a relação entre variáveis e amostras e agrupá-las. Foram considerados os componentes principais cujo somatório de suas variâncias representasse pelo menos 80% da variância acumulada, e deu-se maior atenção ao componente com maior influência da nota sensorial. A partir dos dois principais componentes, construiu-se um gráfico biplot para observar o agrupamento das amostras e das variáveis e o desempenho delas uma em relação às outras e principalmente à nota sensorial.

3 RESULTADOS

3.1 Diversidade genética por marcadores microssatélites

Os marcadores utilizados foram informativos nas amostras estudadas. O número médio de alelos por *locus* SSR genômico foi de 4,5, variando de 3 a 6 alelos, e para EST-SSRs, foi de 5,71 variando de 5 a 8 alelos. O maior número de alelos por *loci* (8) e PIC (0,77) foram observado no *loci* EST-SSR PvM30 e o menor para o genômico SSR-IAC54 ($A/\text{loci} = 3$ e $PIC = 0,11$). Embora a H_e média tenha sido maior para SSR-EST (0,54), comparada com os SSR genômico (0,46), o mesmo não foi observado para H_o (EST-SSR = 0,01; SSR genômico = 0,03). O baixo valor de H_o indica excesso de homozigotos, o que é confirmado pelo f que foi positivo e maior que 0,8 (Tabela 3)

De acordo com os índices de diversidade avaliados, a H_e e H_o nos cultivares comerciais foram 0,42 e 0,02 e nos acessos crioulos 0,50 e 0,02. Foram encontrados dois alelos privados nos feijões comerciais e 29 nos crioulos. Em relação aos alelos raros, ou seja, com frequência abaixo de 0,05% foram encontrados oito nos feijões comerciais e 30 nos crioulos (Tabela 4).

Tabela 3. Comparação de SSR genômico e SSR-EST de 13 *loci* de microssatélites investigados em 185 acessos de feijão comum.

	<i>Loci</i>	<i>A/loci</i>	<i>H_e</i>	<i>H_o</i>	<i>F</i>	<i>PIC</i>
Genômico	SSR-IAC04	5	0,53	0,04	0,92	0,43
	SSR-IAC10	6	0,66	0,11	0,83	0,61
	SSR-IAC22	3	0,53	0,00	1,00	0,45
	SSR-IAC54	3	0,12	0,00	1,00	0,11
	BM212	4	0,49	0,00	1,00	0,44
	BM213	6	0,45	0,00	1,00	0,40
	Média	4,5	0,46	0,03	0,96	0,41
EST-SSR	PvM02	5	0,53	0,04	0,93	0,49
	PvM03	7	0,41	0,00	1,00	0,39
	PvM30	8	0,80	0,00	1,00	0,77
	PVEST 008	5	0,70	0,00	1,00	0,65
	PVEST 017	5	0,44	0,01	0,99	0,38
	PVEST 030	5	0,68	0,01	0,99	0,61
	PVEST 098	5	0,25	0,01	0,98	0,24
	Média	5,71	0,54	0,01	0,98	0,50
Média total		5,15	0,51	0,02	0,97	0,46

A/loci: Número médio de alelos por *loci*; *H_e*: heterozigosidade esperada; *H_o*: heterozigosidade observada; *f*: índice de fixação e *PIC*: conteúdo de informação polimórfica.

Tabela 4. Análise descritiva de 13 *loci* de microssatélites avaliados em 185 acessos de feijão comum dos grupos comerciais e crioulos.

Grupo	<i>N</i>	<i>A/loci</i>	<i>He</i>	<i>Ho</i>	<i>F</i>	<i>PIC</i>	<i>AP</i>	<i>AR</i>
Comercial	27	2,92	0,42	0,02	0,95	0,37	2	8
Crioulo	158	5	0,50	0,02	0,97	0,45	29	30
Média	-	3,96	0,46	0,02	0,96	0,41	-	-

N: tamanho amostral; *A/loci*: Número médio de alelos por *loci*; *H_e*: heterozigosidade esperada; *H_o*: heterozigosidade observada; *F*: índice de fixação; *PIC*: conteúdo de informação polimórfica; *AP* alelos privados; *AR*: alelos raros.

O agrupamento revelou a formação de 10 grupos com o corte determinado a uma distância de 0,656. Nove desses grupos foram formados com poucos acessos, variando de um a cinco, os quais foram compostos por feijões crioulos. O décimo grupo foi formado por 165 acessos, incluindo todos os comerciais e foi subdividido em 15 subgrupos variando de um a 39 acessos (Figura 2). O valor do coeficiente de correlação cofenética foi 0,86. Os SSRs utilizados não detectaram dissimilaridade entre os acessos BRS Campeiro-28 e o BRS Esplendor-30. As distâncias genéticas variaram em uma magnitude de 0 a 1, sugerindo que existe uma variabilidade genética extensa dentro do conjunto de acessos estudados.

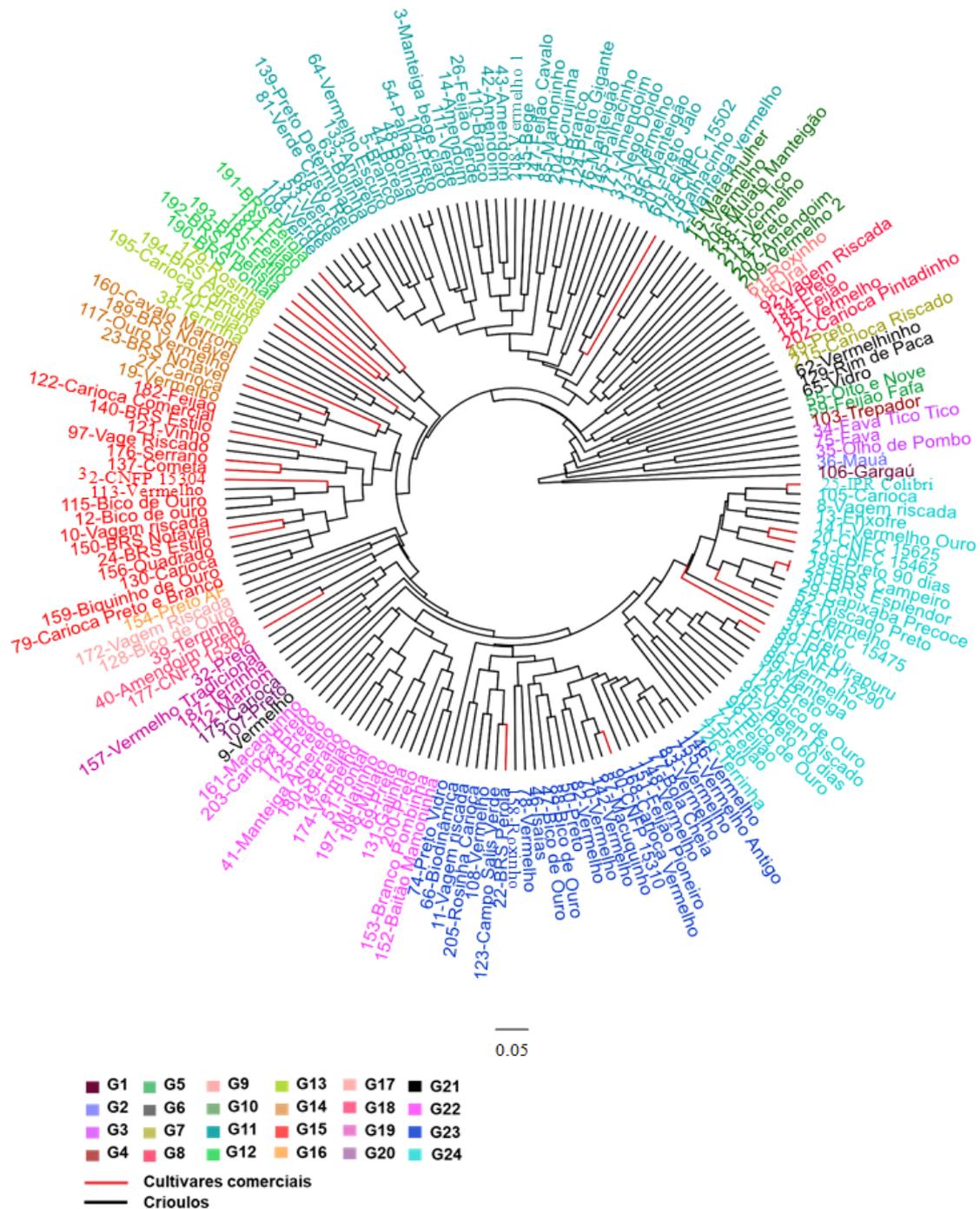


Figura 2. Dendrograma UPGMA construído a partir de medidas da distância de coincidência simples de 185 acessos de feijão. Nomes em preto são os acesso crioulos em vermelho são os cultivares comerciais.

De acordo com o STRUCTURE, constatou-se que o número mais adequado de grupos (K) identificado foi igual a dois (Figura 3). O segundo maior pico dividiu os acessos em três grupos (G1, G2 e G3). O G1 foi formado por 56 acessos, todos crioulos, dos quais 37 são sementes grandes e os 16 restantes são de sementes pequenas e médias. O G2 foi formado por

61 acessos crioulos e 13 cultivares comerciais, o G3 formado por 40 crioulos e 15 comerciais (Figura 3).

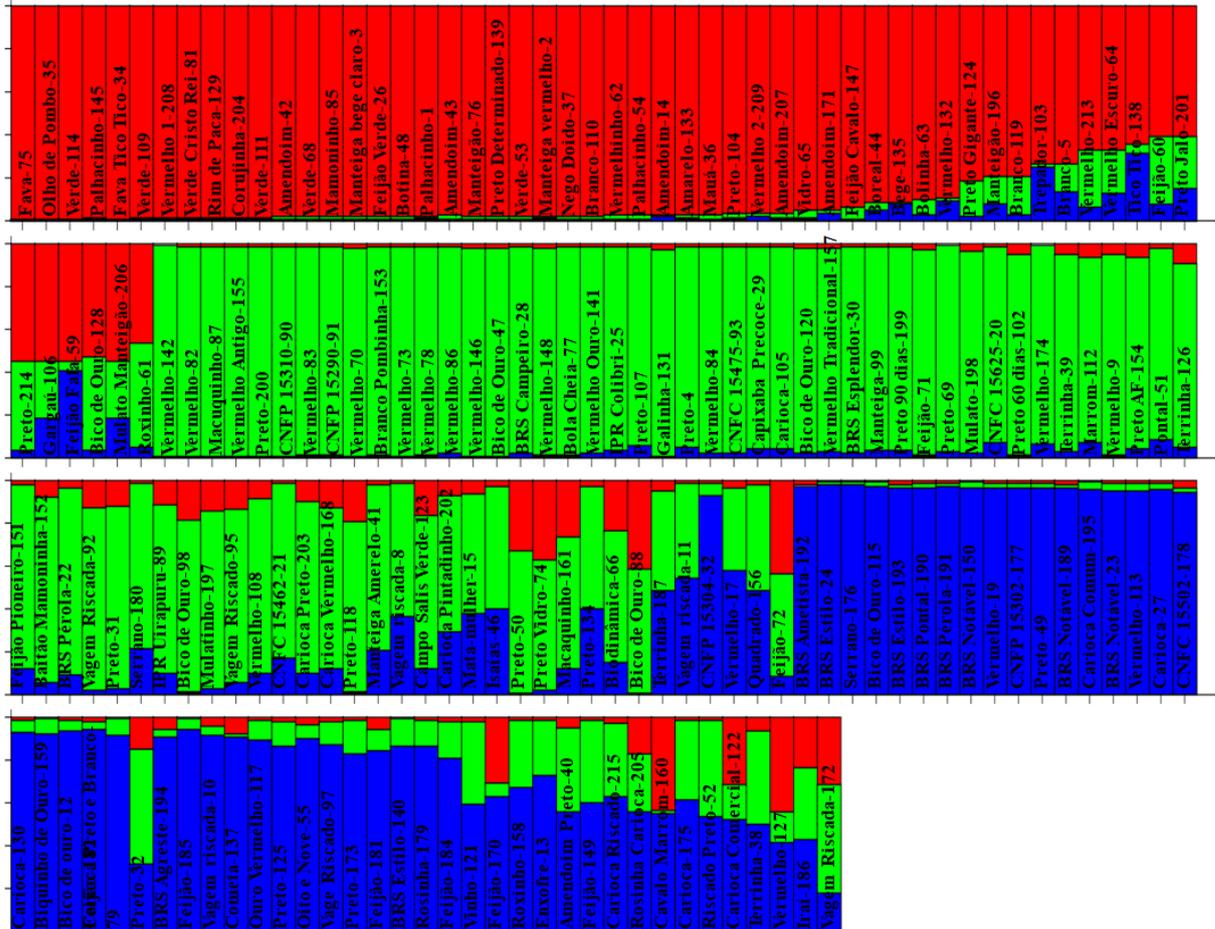


Figura 3. Análises de agrupamento baseado em 13 *loci* microssatélites avaliados em 185 acessos de feijões comuns, crioulos e comerciais. Atribuição individual a cada um dos grupos para $K=2$ e $K=3$, em que, cada indivíduo é representado por uma linha e a proporção de cada cor indica a ancestralidade de cada grupo.

A partir da representação gráfica pelo PCoA permitiu fracionar a diversidade entre os acessos crioulos e comerciais, sendo que os dois primeiros componentes explicaram 20,34% da variação acumulada (Figura 4). Os acessos crioulos apresentaram uma maior variabilidade, o que é consistente com o maior número de alelos encontrada neste grupo (Tabela 3). A diversidade genética observada na Figura 2, 3 e 4 foi avaliada nos 185 acessos e desses, 50 selecionados para a caracterização morfoagronômica.

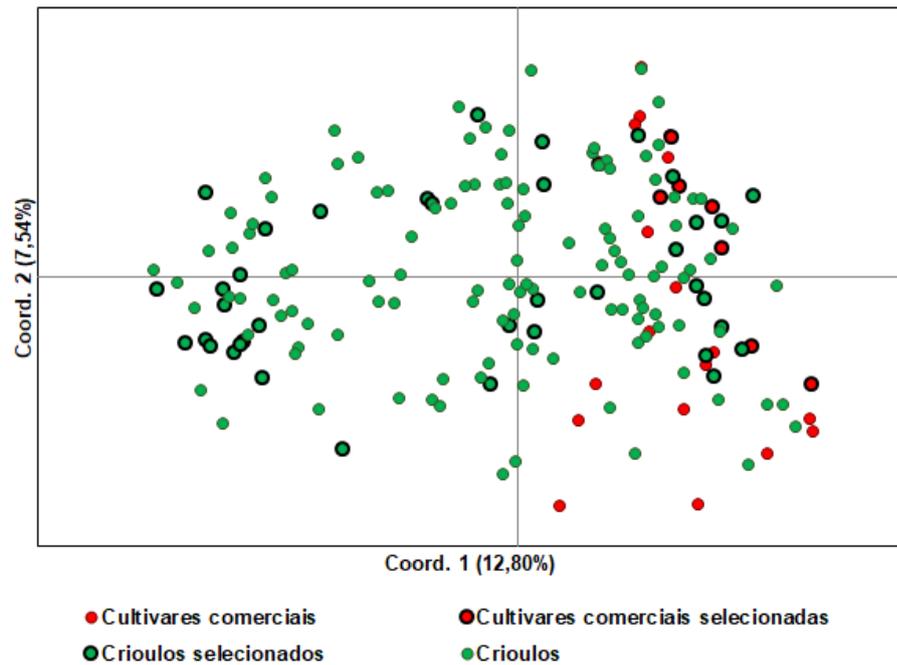


Figura 4. Análise de coordenadas principais obtida através de 13 *loci* de microssatélites avaliados em 185 acessos de feijão comum, representando os 27 feijões comerciais (vermelho), os 158 acessos crioulos (verde), e destes, os 50 selecionados para avaliação em campo (borda preta).

A AMOVA dividiu a variação em 9,88% entre os acessos crioulos e cultivares comerciais, e 90,11% dentro das populações. Apesar de a maior variação genética encontrar-se no componente intrapopulacional, este não foi significativo e a diferenciação entre populações foi significativa ($p < 0,01$) (Tabela 5). O valor do F_{ST} de acordo com o método de Wright foi de 0,074, o que evidencia uma variabilidade genética moderada entre cultivares comerciais e acessos crioulos e alta diferenciação dentro dos grupos de acordo com o F_{IS} de 0,967.

Tabela 5. Análise de variância molecular (AMOVA) de dois níveis hierárquicos obtida a partir de 13 *loci* de microssatélites avaliados em 185 acessos de feijão comum, grupos comercial e crioulo.

Fonte de variação	GL	SQ	QM	Porcentagem
Entre	1	6,754	6,754	9,887*
Dentro	183	209,375	1,144	90,113
Total	184	216,129	1,175	100,000

GL: Grau de liberdade, SQ: Somatório de quadrados, QM: quadrado médio, *: $p < 0,01$

3.4 Caracterização morfoagronômica

A MANOVA revelou diferenças significativas entre os acessos ($P < 0,01$) para as variáveis avaliadas em conjunto, evidenciando variabilidade entre os acessos estudados. Na análise foram desconsiderados o ambiente e a interação, pois o foco deste experimento é a dissimilaridade entre os acessos, sendo utilizada a média dos dois ambientes para as análises multivariadas (Tabela 6).

Tabela 6. Resultados da análise de variância multivariada (MANOVA) realizada em 50 acessos com 12 variáveis morfoagronômica.

Fonte de variação	Df	Pillai ⁺	F aprox	Df num	Df den	P-valor
Bloco	8	1.329	7.7697	80	3120	2.20E-16***
Genótipos	49	2.1883	2.241	490	3920	2.20E-16***
Resíduos	392	-	-	-	-	-

⁺ estatística do teste Traço de Pillai: este valor foi utilizado para calcular uma relação F aproximada (F aprox) com os graus de liberdade do numerador (DF num.) e do denominador (Df den). *** $p < 0,001$.

Foi observada correlação perfeita (1,0) entre as variáveis rendimento e massa de grãos, o que era esperado, visto que o rendimento é calculado pela variável da massa de grãos, desse modo, a variável massa de grãos foi excluída das análises posteriores, devido à alta correlação e pelo fato de ser considerada de menor valor agrônômico em relação à variável rendimento de grãos. A análise de correlação demonstrou que o rendimento está positivamente e significativamente correlacionado com número de nós ($P < 0,05$), número de vagens ($P < 0,001$), número de lóculos por planta ($P < 0,001$), diâmetro ($P < 0,01$), peso de 100 grãos ($P < 0,01$) (Figura 5). A variável número de sementes por plantas apresentou multicolinearidade de 439,82 considerada moderada a forte, o que influencia negativamente a análise multivariadas e com a sua retirada reduziu para 63,22 sendo considerada baixa segundo o critério de Classificação de Montgomery e Peck (1981), subsistindo assim 10 das 12 variáveis.

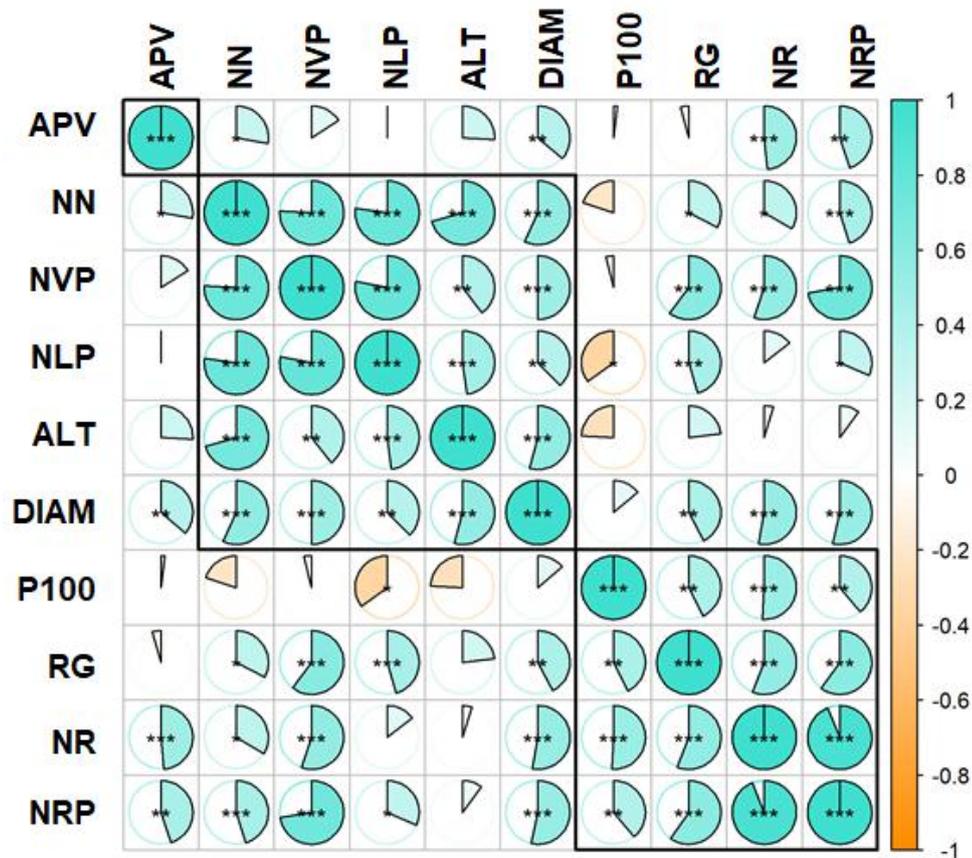


Figura 5. Matriz de correlação de Pearson entre 10 variáveis morfoagronômicas avaliadas em 50 acessos de feijão comum. ALT: altura da planta, APV: altura da primeira vagem, DIAM: diâmetro do caule, NN: número de nós à colheita, NR: número de racemos, NRP: número de racemos produtivos, NV: número de vagens por planta, NLP: número de lóculos por vagem, P100: peso de 100 grãos; RG: rendimento de grãos. Os asteriscos indicam os níveis de confiança de $p < 0,1$, $p < 0,01$, $P < 0,001$ para *, ** e ***, respectivamente.

As variáveis com as maiores contribuições relativas foram altura (29,20%), seguida por número de nós (15,0%), número de lóculos por planta (10,7%), número de racemos (10,1%), número de vagem por planta (8,5%), rendimento de grão (8,1%) e peso de 100 sementes (7,8%). Já as variáveis número de racemos produtivos (0,3%), diâmetro do caule (4,6%) e altura da primeira vagem (5,5%), contribuíram de forma menos significativa na separação dos genótipos (Tabela 3).

Tabela 7. Contribuição relativa dos caracteres para diversidade pelo método de Singh (1981) através da distância generalizada de Mahalanobis.

VARIÁVEL	S.j	VALOR(%)
ALT	2521,6	29,2
NN	1298,6	15
NLP	926,2	10,7
NR	873	10,1
NVP	735,1	8,5
RG	701,7	8,1
P100	675,2	7,8
APV	474,2	5,5
DIAM	394,8	4,6
NRP	29,7	0,3

ALT: altura da planta, APV: altura da primeira vagem, DIAM: diâmetro do caule, NN: número de nós à colheita, NR: número de racemos, NRP: número de racemos produtivos, NV: número de vagens por planta, NLV: número de lóculos por vagem, P100: peso de 100 grãos, RG: rendimento de grãos.

O valor médio da variável altura de planta variou de 30,89 cm (Vermelho-132) a 102,29 cm (BRS Pérola-22). A altura da primeira vagem variou de 8,37 cm (Vermelho-19) a 22,98 (Vagem riscada-10). O diâmetro variou de 4,15 (Carioca vermelho-168) a 15,87 (Beje-135). O maior número de nós foi detectado no acesso N° 10 Quadrado-156 (13,12), número de racemos no Branco-5 (6,16) e número de racemos produtivos no Branco-5 (5,09). O maior número de vagem, número de lóculos e de sementes por planta foram respectivamente 15,00, 80,99 e 87,18, todos detectados no acesso Preto 13-69. O maior peso de 100 grãos e rendimento foi registrado para o acesso Branco-5 (18,03 g e 4.062,30 kg.ha⁻¹ respectivamente) (Apêndice 2).

O UPGMA possibilitou a distribuição dos 50 acessos em seis grupos de acordo com o ponto de corte (Figura 6). A menor dissimilaridade foi entre os acessos Verde cristo rei-81 e Feijão verde-26 (0,266) e a maior entre Branco-5 e N° 10 Quadrado-156 (30,274) (Figura 6).

Foram formados por um acesso crioulo os grupos G1 (Branco-5) e o G2 (N°10 Quadrado-156). O G3 foi formado por 14 crioulos (Verde cristo rei 01-81, Feijão verde-26, Amarelo-133, Preto-104, Palhacinho-1, Amendoim-14, Verde-114, Verde 02-68, Verde-111, Verde-109, Vermelho-132, Beje-135, Manteiga beje claro-3, Vermelho-9, N° 10 Quadrado-156, Branco-5) e dois cultivares comerciais (CNFC 15625-20, IPR Colibri-25). O G4 foi formado por dois crioulos (Carioca-105 e Amendoim-42). O G5 também foi formado por dois

acessos, sendo um crioulo (Feijão rainha-18) e um comercial (BRS Pérola-22). No G6 alocaram-se 19 crioulos (Vagem riscada-172, Preto-4, Bico de ouro-128, Enxofre-13, Vagem riscada-11, Feijão 04-149, Preto13-69, Preto-118, Vermelho-174, Carioca vermelho-168, Bico de ouro-120, Vagem riscada-10, Vagem riscada-8, Vagem riscada-92, Ouro vermelho-117, Marrom-112, Vermelho-19, Bico de ouro-12, Branco-110) e nove cultivares comerciais (CNFC 15462-21, BRS Supreme-181, CNFP 15304-32, BRS Notável-23, BRS Esplendor-30, IPR Uirapuru-89, Emcapa 404 Serrano-180, BRS Estilo-24, BRS Notável-150).

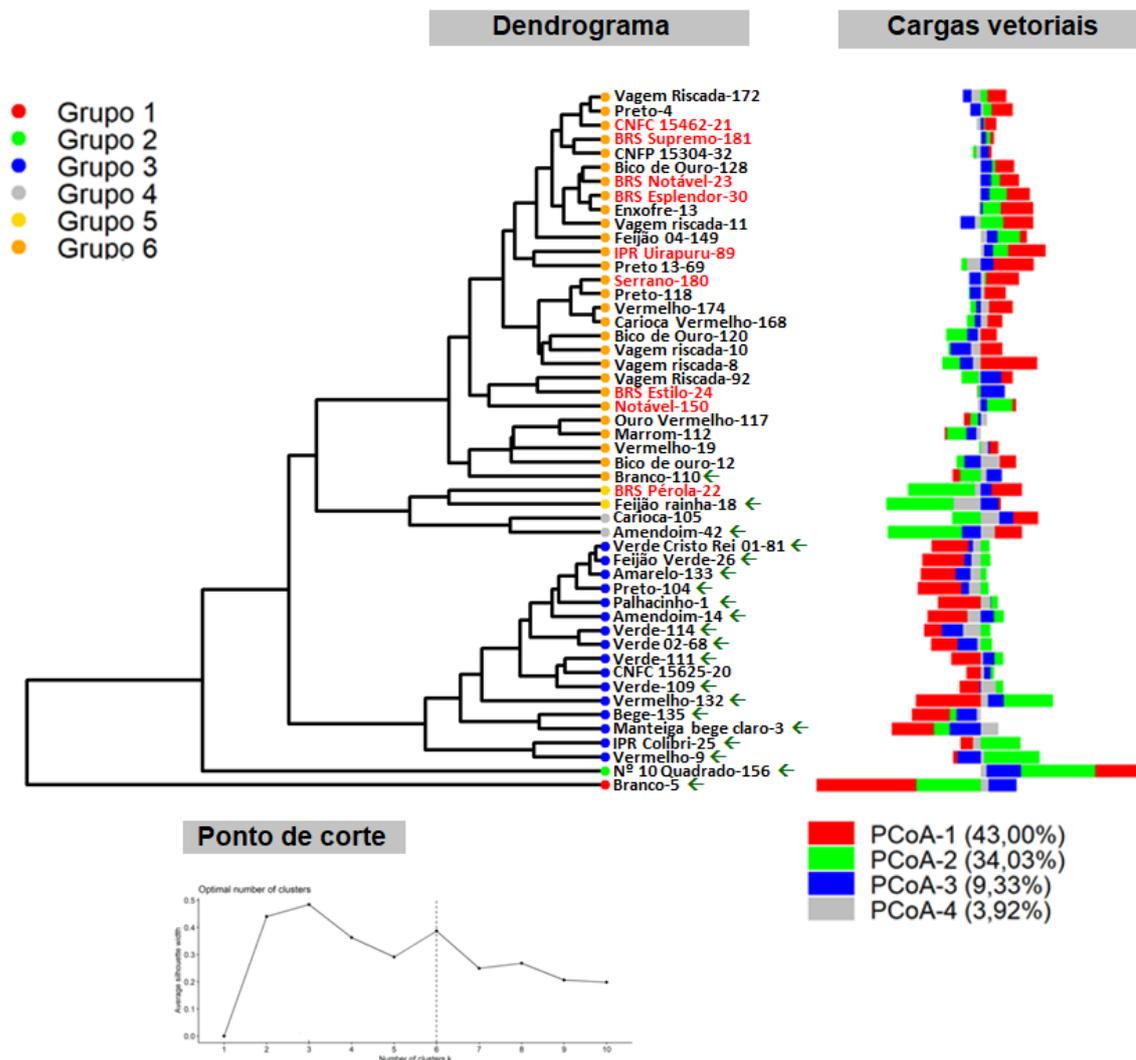


Figura 6. Dendrograma obtido por meio de 10 variáveis quantitativas com a distância de Mahalanobis e pelo método de agrupamento UPGMA em 50 acessos de feijão comum. As setas indicam os acessos com peso de 100 sementes acima de 30g. Também está apresentado as cargas vetoriais dos quatro primeiros componentes principais. As cargas vetoriais são os pesos dados a cada variável para cada um dos componentes por meio do qual permitem a interpretação das componentes.

No biplot (Figura 1), as variáveis são representadas por vetores e as amostras por

números. Quanto maior o vetor, maior a influência da variável no agrupamento, e quanto menor o ângulo entre os vetores, maior a correlação entre as variáveis. Os primeiros três componentes do PCA explicaram cerca de 81,49% da variação, sendo 46,57% para a primeira, 22,23% para a segunda e 12,69% para a terceira. Os dois primeiros componentes explicaram 68,8% da variação. Mesmo com os baixos valores de variância foi possível identificar seis grupos de acordo com a qualidade pelo biplot dos dois componentes (Figura 7) em que há uma concordância entre os grupos formados pelo agrupamento UPGMA (Figura 6).

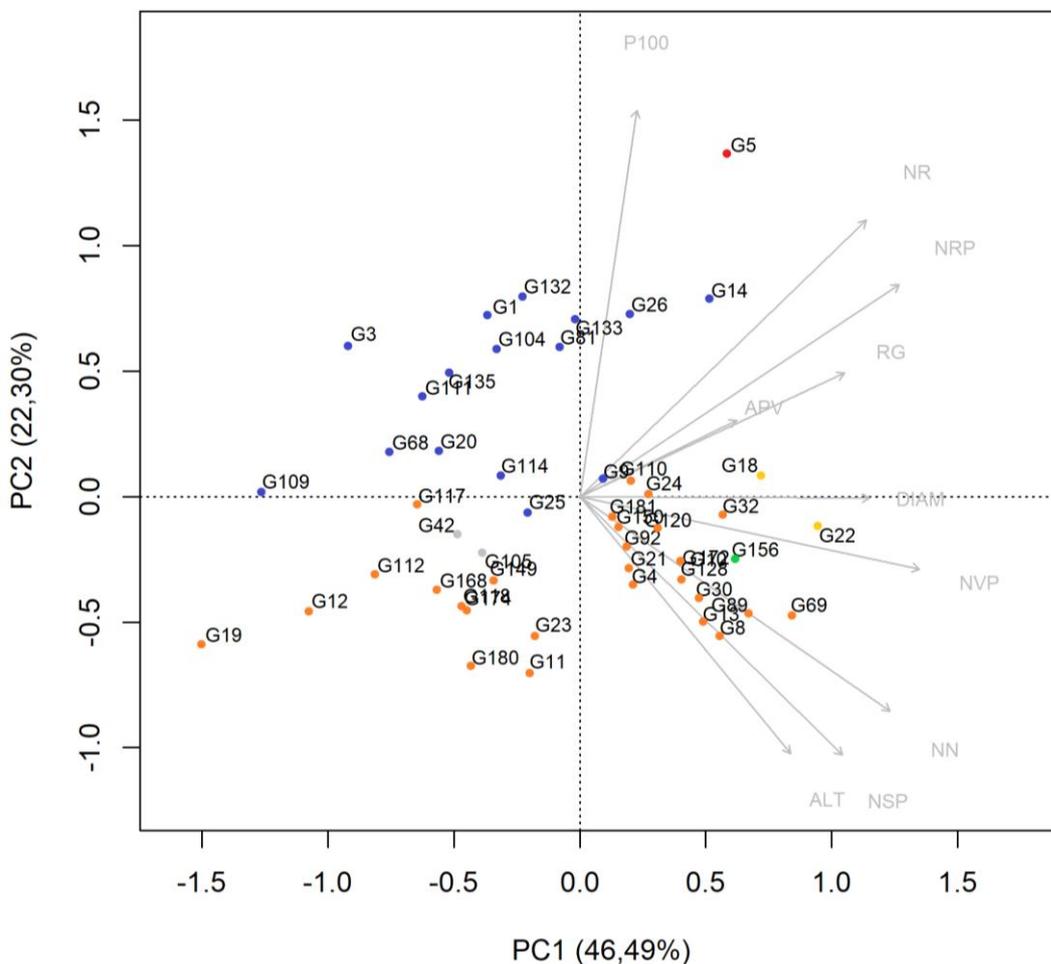


Figura 7. Biplot dos dois primeiros eixos da análise de componentes principais (PC1 e PC2) de 10 variáveis morfagronômicas avaliadas em 50 acessos de feijão comum. ALT: altura da planta, APV: altura da primeira vagem, DIAM: diâmetro do caule, NN: número de nós à colheita, NR: número de racemos, NRP: número de racemos produtivas, NV: número de vagens por planta, NLV: número de lóculos por vagem, P100: peso de 100 grãos; RG: rendimento de grãos.

Foram obtidos 10 componentes principais, dos quais três foram selecionados por

acumularem 81,49% da variância total (Tabela 8). O primeiro componente principal (PC1) foi o que apresentou maior influência da variável número de vagem por planta, sendo, portanto, de maior interesse neste trabalho. As variáveis de maior peso no PC1 foram número de vagem por planta, número de racemos produtivos e número de nós positivamente.

Tabela 8. Coeficientes de 10 variáveis analisadas em 50 acessos de feijão comum para os três primeiros componentes principais.

Variáveis	PC1	PC2	PC3
ALT	0,253	-0,372	-0,217
APV	0,189	0,111	-0,729
DIAM	0,349	-0,002	-0,211
NN	0,373	-0,311	-0,059
NR	0,345	0,401	-0,108
NRP	0,384	0,307	-0,030
NVP	0,409	-0,105	0,222
NLP	0,315	-0,375	0,288
P100	0,068	0,560	0,148
RG	0,318	0,179	0,455
Proporção da variância	0,4657	0,2223	0,1269
Proporção acumulada da variância	0,4657	0,688	0,8149

ALT: altura da planta, APV: altura da primeira vagem, DIAM: diâmetro do caule, NN: número de nós à colheita, NR: número de racemos, NRP: número de racemos produtivas, NV: número de vagens por planta, NLP: número de lóculos por vagem, P100: peso de 100 grãos, RG: rendimento de grãos.

4 DISCUSSÃO

Este estudo constitui um relato sobre a diversidade genética e estrutura de acessos de feijão comum em uma coleção de trabalho representativa do estado do Espírito Santo por meio de marcadores microssatélites e variáveis morfoagronômicas. O fato da produção de feijão do estado ser realizado por meio de agricultura de subsistência e a comercialização em mercados e feiras locais favorece o desenvolvimento de acessos crioulos com nomes vernaculares atribuídos pelos próprios produtores, que recolhem um bulk de sementes de várias plantas sem garantia de homogeneidade e realizam o plantio na próxima safra e assim geração após geração.

No presente estudo um total de 185 acessos de feijão comum cultivados no estado do Espírito Santo foram avaliados com 13 SSRs e desses, 50 acessos foram avaliados com 12 variáveis morfoagronômica. As coletas foram realizadas em 12 municípios do estado. A coleção utilizada é maior do que a do estudo realizado por Cabral et al. (2010, 2011) em que

foram coletados 57 acessos de feijões crioulos e cultivares comerciais no município Muqui-ES e detectaram por meio de SSR e variáveis morfoagronômicas ampla diversidade genética. Estudos com caracterização de acessos crioulos comparados com comerciais por meio de marcadores moleculares e variáveis morfoagronômicas são confiáveis para avaliação da diversidade genética, visando discriminar acessos promissores aos programas de melhoramento da cultura do feijoeiro e para conservação do recurso genético (SHARMA et al., 2013; SCARANO et al., 2014; RANA et al 2015).

As coletas de feijões crioulos realizadas no estado no Espírito Santo permitiram discriminar tipos comerciais. As sementes predominantes foram de tamanho pequeno e médio (características do pool gênico mesoamericano), principalmente dos tipos vermelho (16 acessos), preto (15) e carioca (10). No cenário nacional o feijão preto era o tipo mais tradicional e amplamente cultivado no Brasil, porém, o feijão carioca caracterizado por grãos com listras pretas em um fundo creme claro passou a ser o tipo comercial característico com 70% do mercado consumidor (PELOSO; MELO, 2005). Também foram encontrados feijões com grãos grandes (característica do pool gênico andino), dentre eles jalo (5 acessos), rajado (3), branco (5), vermelho grande (5) além de feijões designados pelos produtores com o nome vernacular de “palhacinho” (4 acessos). Esses tipos são pouco representativos no mercado nacional, porém seus atributos organolépticos são desejados por consumidores que algumas vezes pagam mais por esses produtos (NEGRI; TOSTI, 2002; GALVAN et al., 2006, MUREKEZI et al., 2017). Além disso são alternativas atender o mercado de exportações (PEREIRA et al., 2010).

4.1 Diversidade genética por marcadores microssatélites

O estudo da diversidade genética por meio de 13 SSR foi realizado com 185 acessos, dos quais 158 são crioulos e 27 comerciais. A heterozigosidade observada foi atribuída com valores próximos ou iguais a zero. Já no índice de fixação, apresentou valores iguais ou próximos a um. De forma geral a partir desses dois parâmetros evidencia-se que a maior parte dos *loci* avaliados se encontram em excesso de homozigotos. A homozigose é ocorrente em feijoeiro, visto que a espécie é preferencialmente autógama, apresentando autofecundação igual ou superior a 95% (BESPALHOK et al., 2014).

Segundo a classificação apresentada por Botstein et al. (1980) valores de PIC abaixo de 0,25 são pouco informativos, de 0,25 a 0,5 medianamente informativos e superiores a 0,5 muito informativos. Neste estudo variou de pouco (0,11 - SSR-IAC54) a muito informativo

(0,77 - PvM30), com média geral 0,46, indicando que os marcadores em conjunto apresentaram qualidade mediana. Os valores desse trabalho foram superiores aos detectados por Cabral et al (2011) que utilizaram 16 SSR em 57 acessos de feijão e encontraram PIC variando de 0,11 a 0,51, e semelhantes aos autores Persegini et al. (2015) que estudaram 58 SSR em 500 acessos de feijão e detectaram PIC variando de 0,17 a 0,86. Logo, os SRR utilizados nesse trabalho foram eficientes, indicando seu uso potencial no acesso à diversidade genética em feijão comum.

Os acessos crioulos possuem maior número de alelos privados e raros (29 e 30, respectivamente) que os acessos comerciais (2 e 8, respectivamente) (Tabela 4). Os alelos privados são decorrentes de mutação, migração, adaptação e seleção a condições ambientais específicas. Um alelo pode surgir ocasionalmente e pode ter aumentado sua frequência na população por meio de hibridação ou gargalo genético, dando origem a um alelo privado. No feijão, devido ao predomínio de autogamia espera-se que esse evento não seja comum, no entanto para os acessos crioulos estudados foram encontrados em larga escala. Esse fato é interessante, pois a presença de alelos privados nos acessos crioulos pode estar relacionada com a adaptação aos diferentes ambientes em que o feijão é cultivado no estado do Espírito Santo. No futuro, uma estrutura genética pode ser gerada, resultando em maior diferenciação entre crioulos e comerciais, definindo a identidade genética de cada grupo, e podem ser utilizados para a determinação do relacionamento genético. No trabalho realizado por Delfini et al. (2017) 24 alelos privados foram identificados em 16 dos *loci* analisados no grupo carioca, enquanto no grupo preto, 22 alelos foram encontrados. Já no estudo de Cardoso et al. (2014) em uma análise de 114 genótipos de feijão, incluindo 50 cultivares comerciais de instituições públicas no Brasil e em outros países, e 64 linhas utilizadas em programas de melhoramento, encontraram 35 alelos privados em 15 *loci* microssatélites analisados e observaram que cultivares mais recentes têm um maior número de alelos privados.

O elevado número de alelos raros (frequência <0,05%) nos crioulos pode fazer com que esses se sobressaiam em relação aos comerciais, quando submetidos a eventos como forte pressão de seleção, ataque de pragas, doenças ou mudanças bruscas de clima, conferindo tolerância/resistência a estes fatores (KRUSCHE; GEBUREK, 1991). Estes resultados possivelmente refletem a incorporação de novos genótipos nos programas de melhoramento, respondendo à demanda por cultivares com diferentes características.

A análise de agrupamento molecular com 13 marcadores SSR foi eficiente para avaliar a diversidade genética entre os acessos de feijão comum. Os cultivares comerciais ficaram distribuídos entre os feijões crioulos, o que permite concluir que os feijões crioulos cultivados

no estado do Espírito Santo conservam tanto diversidade quanto similaridade com feijões comerciais, sendo assim um aspecto importante do ponto de vista do melhoramento, uma vez que feijões crioulos podem já possuir características de interesse.

Os SSRs utilizados não detectaram dissimilaridade entre os acessos BRS campeiro-28 e o BRS Esplendor-30, ambos os grãos de cor preto e desenvolvidos pelo mesmo programa de melhoramento.

4.2 Caracterização morfoagronômica

Os métodos de análises multivariadas são considerados ideais para descrições de diversidade genética, pois trata as variáveis de forma conjunta (MIQUELONI et al., 2018, ARAGÃO et al., 2013) e são capazes de unificar múltiplas informações de um conjunto de caracteres de interesse no melhoramento genético (CRUZ; REGAZZI, 2001; FONSECA et al., 2006) a fim de detectar uma possível estrutura de grupos pela análise de agrupamento.

A MANOVA dos dados quantitativos mostrou significância para as variáveis analisadas, indicando a existência de variabilidade genética entre os acessos. O rendimento de grãos teve correlações positivas e significativas com número de nós, número de vagem, número de lóculos por vagem (Figura 4). Resultados semelhantes foram encontrados por Singh et al. (1995), Kumar et al. (2002), Assady et al. (2005) e Salehi et al. (2008) em feijoeiro, o que evidencia que estas variáveis são úteis para selecionar alto rendimento em programas de melhoramento de feijoeiro.

O conhecimento da correlação informa ao melhorista associações que ocorrem em um determinado traço devido à seleção em outro traço correlacionado Ramalho et al. (1993). Assim, busca-se um equilíbrio entre as variáveis, de forma que a planta tenha um ideótipo que maximize o rendimento de grãos, levando em consideração as demais variáveis, como por exemplo, um aumento expressivo do número de vagem pode não ser suportado por uma planta que não apresentar incremento no diâmetro do caule. Observou-se para rendimento de grãos correlações positiva e significativas com peso de 100 grãos, número de racemos e número de racemos produtivos, o que indica que a seleção de uma característica aumentaria a expressão de outra.

Dentre as variáveis morfoagronômicas foi observado para altura de plantas um maior poder discriminatório pelo teste de Sighn (1981) (Figura 7). Esta variável, quanto maior seu valor minimiza perdas nos tratos culturais e na colheita mecanizada, pois evita o contado

direto do legume no chão, proporcionado um melhor estado fitossanitário da semente (SALGADO et al., 2012; BISOGNIN, 2018). No presente trabalho a altura das plantas foi de 30,89 cm (Vermelho-132) a 102,29 cm (BRS Pérola-22). A amplitude de variação para essa variável foi maior, comparada a observada pelos autores Bonnet et al. (2006) e Salgado et al. (2011) que observaram valores de 28,6 a 53,6 cm e 67 a 108 cm, respectivamente, demonstrando a diversidade da coleção estudada, que serve de base para futuros trabalhos de melhoramento que buscam diferentes alturas de plantas. De acordo com Simone et al. (1992) plantas ideais para colheita mecanizada devem apresentar altura superior a 50 cm. No presente trabalho, 68% do total de acessos se enquadraram nesse padrão. No entanto vale destacar que plantas com alturas muito elevadas, principalmente comparadas à planta de menor porte, propicia a maior ocorrência de acamamento e tombamento causada pela ação de vento, o que impossibilita a colheita mecanizada e aumenta perdas de grãos. Por outro lado, a baixa estatura apresentada por 32% dos acessos remanescentes, não é limitação para o cultivo do feijoeiro, pois esses acessos podem ser utilizados por pequenos agricultores que utilizam mão de obra familiar.

O diâmetro do caule e altura da primeira vagem apresentaram uma baixa importância discriminatória (4,6 e 5,5%, respectivamente) pelo teste de Singh (1981). Entretanto essas variáveis estão incluídas nos programas de melhoramento do feijoeiro com o objetivo de representar vantagens para os produtores de feijão. O diâmetro do caule é importante por promover uma melhor sustentação da planta e evitar acamamento (OLIVEIRA et al., 2014) preconizando a redução de perdas, bem como favorecer a colheita mecanizada, com destaque para o acesso Preto 13-69 com 6,6cm da variável (Apêndice 4). A maior parte dos cultivares existentes no Brasil apresentam a altura de inserção da primeira vagem entre 5 e 10 cm (SILVA; FONSECA 1996; SALGADO et al., 2011). De acordo com Silva et al. (2009) plantas com inserção da primeira vagem superior a 9,3 cm favorecem a colheita direta de feijão com colheitadeira. No presente trabalho, um dos acessos teve altura da primeira vagem inferior a 9,3 cm, sendo esta a amostra Vermelho-19 (8,37 cm), as demais obtiveram altura variando de 9,91 (Verde-109) a 22,98 (Vagem riscada-10), assim entre os acessos estudados é possível obter um padrão de planta que permita a colheita mecanizada (Apêndice 4). Resultados semelhantes foram detectados no trabalhos desenvolvidos por Elias et al. (2008), que avaliaram 22 populações avançadas e duas testemunhas e Gomes Junior et al. (2005) avaliando o cultivar IAC Carioca, que detectaram valores para altura da primeira vagem variando de 9,9 a 27,49 cm. Os autores Afféri et al. (2008) avaliando 17 linhagens e 12 variedades, dentre elas BRS Pérola encontraram valores variando entre 10 e 27 cm. Plantas

em que a primeira vagem não entra em contato direto com o solo impede o apodrecimento destas pelo excesso de umidade e o ataque de fungos, promovendo assim melhor estado fitossanitário das sementes (KAPPES et al., 2008; SALGADO et al., 2012).

Os componentes de produção como rendimento de grãos, número de vagens por planta, número de sementes por vagem e massa de grãos por planta estão relacionadas com a produtividade da cultura do feijoeiro (ZILIO et al., 2011). A produtividade média encontrada nos acessos crioulos do pool gênico andino foi de 1.868,65 kg.ha⁻¹, dos mesoamericanos 1.639,73 kg.ha⁻¹ e dos cultivares comerciais 2.017,83 kg.ha⁻¹. O maior valor foi observado para o acesso crioulo Branco-5 (4.062,30 kg.ha⁻¹), no qual esta superioridade deu-se provavelmente pelo fato de apresentar maior massa de grãos (20,31), maior número de sementes (40,43) e de vagens por planta (13,34) no acesso crioulo (Apêndice 4). Estes resultados comprovam os relatos feitos por Ferrão et al. (2001), onde enfatizaram que o rendimento de grãos do feijoeiro correlaciona-se principalmente com o número de vagens por área e massa de grão.

Assim, observa-se que mesmo as condições climáticas nos ambientes de experimentação não sendo favoráveis, devido à ocorrência de irregularidade das chuvas que ocasionou regime pluviométrico de baixa qualidade (INCAPER, 2017a; 2017b; 2018), teve uma alta magnitude para a produtividade comparada à 1ª safra brasileira de 2017/2018, que apresentou média 1.728,00 kg.ha⁻¹ (COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO, 2018). Os resultados do presente trabalho corroboraram com os de Ribeiro et al. (2003), Ramos Junior et al. (2005), Afférri et al. (2008) e Elias et al. (2008) que obtiveram produtividades que variaram de 316 a 3.587 kg.ha⁻¹.

Com relação à massa de 100 grãos, observa-se superioridade na linhagem CNFC 10470 com 39,13 g e das cultivares Pérola e BRSMG Majestoso com 38,77 g e 37,36 g, respectivamente (Apêndice 4). Estes resultados concordam com os obtidos por Teixeira et al. (2000), Ribeiro et al. (2003), Gomes Junior et al. (2005), Ramos Junior et al. (2005) e Hoffmann Júnior et al. (2007), que obtiveram valores que variaram entre 16,8 a 37,9 g. Os acessos discriminados forneceram indicativos de genótipos de diferentes centros de origem. Segundo GEPTS & BLISS (1986) e COELHO et al. (2007), genótipos com peso de 100 sementes inferior a 25g pertencem ao centro Mesoamericano e, quando superior a 33g, ao centro Andino. A massa de 100 grãos verificada para as variedades crioulas de forma geral foram semelhantes aos resultados obtidos por outros autores (ELIAS et al. 2007; COELHO et al., 2010; LIMA et al., 2012). De acordo com Singh et al. (1989) citado por Elias et al. (2007), o tamanho das sementes de feijão cultivado pode variar de menos de 15 até 90 gramas por 100

sementes e são agrupadas em pequenas. A identidade do pool gênico de feijão é substanciada pelas características de sementes, sendo o tamanho um critério importante para a identificação. Neste estudo, nos grupos G1, G4, G5 e G6 ficaram os grãos com peso de 100 sementes variando de 20,85 a 58,28 g, evidenciando a possibilidade de haver representantes do pool gênico Andino (Apêndice 4). O acesso que apresentou grão de maior peso foi Branco-5, com 58,28g, sendo o único acesso do grupo 1 (Apêndice 4). Em estudos realizado por Gomes Junior et al. (2005), Ramos Junior et al. (2005) e Hoffmann Júnior et al. (2007) obtiveram valores que variaram entre 16,8 a 37,9 g. Nos grupo G2 e G3 o peso de 100 sementes variou de 16,37 (Vagem riscada-8) a 29,49 g (Feijão rainha-18), sugestivamente neste grupo há representantes do pool gênico mesoamericano (Apêndice 4). Com base nesta classificação, 38% dos acessos pertencem ao pool gênico Andino, fazendo parte os grãos com sementes de cor bege, marrom, vermelho, amarelo, verde, branco e cores mistas. E um total de 62% faz parte do pool gênico mesoamericano, que são principalmente feijões do tipo preto, vermelho e carioca. Desse modo, os pools gênicos mesoamericano possuem mais representantes, porém, o andino possui maior diversidade na morfologia da semente. Esse resultado foi semelhante ao encontrado por Blair et al. (2013) e Cardoso et al. (2014), com trabalhos realizados com coleções de feijões brasileiros.

Segundo Falconer (1987) a variabilidade é um dos pontos chaves para que ocorra a formação de populações com potencial de seleção. A distribuição dos acessos no dendrograma mostra a formação de seis grupos. A combinação com maior dissimilaridade ocorreu entre os acessos Branco-5 (do grupo andino) e N° 10 Quadrado-156 (do grupo gênico Mesoamericano), com distância de 30,274, revelando uma grande variabilidade genética existente entre estes acessos. O mais apropriado seria recomendar cruzamentos entre genitores divergentes e que apresentem desempenho superior para as variáveis desejáveis ou potenciais, tais como rendimento de grão, possibilitando a obtenção de acessos superiores nas gerações segregantes. A combinação com menor magnitude de dissimilaridade (distância = 0,266) foi entre os acessos Verde cristo rei-81 e Feijão verde-26 (ambos do grupo gênico Andino), indicando proximidade entre esses acessos. Apesar da extensa variabilidade genética no Brasil, foi observado baixa variabilidade entre os cultivares atuais, sobretudo, devido à pressão do mercado por tipos específicos de grãos e o expressivo plantio de cultivares melhoradas, o que as tornam mais vulneráveis às pragas, doenças e à ocorrência de estresses abióticos, como a seca, que em conjunto resultam em menor produtividade de grãos (ABDURAKHMONOV; ABDUKARIMOV, 2008).

Pelo agrupamento, verificou-se que G1 a G4 se diferenciou dos demais, formados unicamente com acessos crioulos. Os outros dois grupos (G5 e G6), alocaram-se juntamente crioulos e comerciais, demonstrando similaridade entre crioulos e comerciais pelas variáveis em estudo. Os acessos crioulos podem possuir muitos genes valiosos, que são recursos importantes para melhorar a resistência/tolerância ao estresse biótico e abiótico (HANSON et al., 2007; SIFRES et al., 2011).

Com base na análise de componentes principais mostrou que as dez variáveis morfoagronômicas participaram do agrupamento de feijão comum, no qual número de vagens por planta e peso de 100 sementes tiveram maior participação. Essas variáveis poderiam ser explorados como marcadores morfoagronômicos úteis para discriminar os genótipos de feijão (GANA et al. 2013).

5 CONCLUSÃO

Os genótipos crioulos Verde-111, Branco-110, Preto13-69, Feijão rainha-18, Branco-05 e o cultivar comercial Pérola-102 apresentaram elevados níveis de produtividade (acima de 3.000 kg.ha⁻¹) e podem ser incorporados aos programas de melhoramento da cultura ou sugeridos para os agricultores. Destes os acessos Preto 13-69 e Pérola-102 possuem peso de 100 sementes menores que 30g, sendo portanto considerados de origem mesoamericanos.

Os acessos mais divergentes por variáveis morfoagronômicas foram e Branco-5 e N°10 Quadrado-156 (distância=30,27). Os marcadores SSRs apresentaram 100% de dissimilaridade entre 25 pares de acessos.

As variáveis com maior poder discriminatório foi altura de plantas, seguida por número de nós e número de lóculos por planta, tais variáveis contribuíram para separação dos acessos e podem ser utilizados nos trabalhos de divergência genética e na identificação de duplicatas em coleções de trabalho.

Tanto as análises por SSR quanto por variáveis morfoagronômicas foram capazes de separar os acessos de acordo com os centros de origem, e permitiram uma descrição detalhada da diversidade presente na coleção.

Os acessos crioulos e comerciais alocaram-se em um mesmo grupo. Assim, os acessos crioulos possuem características de interesse, dado que os comerciais já passaram por algum processo de melhoramento genético.

Os feijões crioulos estudados constituem um recurso genético promissor pelo desempenho igual ou superior aos componentes de rendimento dos cultivares comerciais

analisados.

Os feijões crioulos apresentam maior diversidade em nível molecular e morfoagronômico, carecendo de planejamento de estratégias de conservação e uso em programas de melhoramento genético.

6 REFERÊNCIAS

- ABDURAKHMONOV, I. Y.; ABDUKARIMOV, A. Application of association mapping to understanding the genetic diversity of plant germplasm resources. *International Journal of Plant Genomics*, v. 2008, 2008.
- AKIBODE, S.; MAREDIA, M. K. Global and regional trends in production, trade and consumption of food legume crops. Department of Agricultural, Food and Resource Economics, Michigan State University, 2011. 83 pp.
- AMBADE, R. L. et al. Genetic diversity based on molecular markers in Grasspea (*Lathyrus sativus* L.). **Legume Research: An International Journal**, v. 38, n. 1, 2015.
- ANUÁRIO ABRASEM 2003. Associação Brasileira de Sementes e Mudanças. Brasília, 2003. 164p.
- ASSADY, B.; DORRI, H. R.; VAEZI, S. Study of genetic diversity of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) genotypes by multivariate analysis methods. In: **The first Iranian Pulse symposium, research center for plant sciences. Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran. pp.** 2005.
- BEEBE, S. Common bean breeding in the tropics. **Plant Breeding Reviews**, 2012, p. 357-426.
- BENCHIMOL, L. L. et al. Structure of genetic diversity among common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) varieties of Mesoamerican and Andean origins using new developed microsatellite markers. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 54, n. 8, p. 1747-1762, 2007.
- BENNETT, MICHAEL D.; SMITH, J. B. Nuclear DNA amounts in angiosperms. **Philosophical Transactions of the Royal Society**, v. 274, n. 933, p. 227-274, 1976.
- BERTOLDO, J. G. et al. Genetic progress of black bean (*Phaseolus vulgaris* L.) over seven years. **Interciencia**, v. 39, n. 1, 2014.
- BITOCCHI, E. et al. Mesoamerican origin of the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) is revealed by sequence data. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 109, n. 14, p. E788-E796, 2012.
- BITOCCHI, E. et al. Molecular analysis of the parallel domestication of the common bean (*Phaseolus vulgaris*) in Mesoamerica and the Andes. **New Phytologist**, v. 197, n. 1, p. 300-313, 2013.
- BLAIR, M. W. et al. Diversity and population structure of common bean from Brazil. **Crop Science**, v. 53, n. 5, p. 1983-1993, 2013.

- BLAIR, M. W.; SOLER, A.; CORTÉS, A. J. Diversification and population structure in common beans (*Phaseolus vulgaris* L.). **PLoS One**, v. 7, n. 11, p. e49488, 2012.
- BOTSTEIN, D. et al. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. **American journal of human genetics**, v. 32, n. 3, p. 314, 1980.
- BURLE, M. L. et al. Microsatellite diversity and genetic structure among common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) landraces in Brazil, a secondary center of diversity. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 121, n. 5, p. 801-813, 2010.
- CABRAL, P. D. S. et al. Genetic diversity in local and commercial dry bean (*Phaseolus vulgaris*) accessions based on microsatellite markers. **Genetics and Molecular Research**, v. 10, n. 01, p. 140-149, 2011.
- CABRAL, P. D. S. et al. Quantification of the diversity among common bean accessions using Ward-MLM strategy. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 45, n. 10, p. 1124-1132, 2010.
- CARDOSO, P. C. B. et al. Discrimination of common bean cultivars using multiplexed microsatellite markers. **Genetics and molecular research**, v. 13, n. 1, p. 1964-1978, 2014.
- CARIAS, C. M. O. M. et al. Genetic divergence toward the selection of promising bean progenitors via mixed multivariate models. **Ciencia e Investigación Agraria**, v. 45, n. 3, p. 251-262, 2018.
- CARNEIRO, J. E. S.; PAULA JÚNIOR, TJ de; BORÉM, A. Feijão: do plantio à colheita. **Viçosa: Ed. UFV. P**, v. 384, 2015.
- CASTRO-ROSAS, J. et al. Effect of harvest year on the physical properties, chemical composition and cooking time of three common bean varieties that are grown in Mexico. **Quality Assurance and Safety of Crops & Foods**, v. 8, n. 3, p. 339-348, 2016.
- COELHO, C. M. M. et al. Diversidade genética em acessos de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). **Ciência Rural**, v. 37, n. 05, p. 1241-1247, 2007.
- COLLICCHIO, E.; RAMALHO, M. A. P.; ABREU, Â. F. B. Associação entre o porte da planta do feijoeiro e o tamanho dos grãos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 32, n. 3, p. 297-304, 1997.
- CONAB COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. Perspectivas para a agropecuária. v.1. Brasília: Conab, 2013
- CRUZ, C. D. GENES - a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. *Acta Scientiarum*. v.35, n.3, p.271-276, 2013.
- DEL PELOSO, M.J.; MELO, L.C. Potencial de rendimento da cultura do feijoeiro comum. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2005. 131p.
- DELFINI, J. et al. Distinctness of Brazilian common bean cultivars with carioca and black grain by means of morphoagronomic and molecular descriptors. **PloS one**, v. 12, n. 11, p. e0188798, 2017.
- DOYLE, J. J.; DOYLE, J. L. Isolation of plant DNA from fresh tissue. **Focus**, v.12, p.13- 15, 1990.
- EARL, D. A.; VONHOLDTA, B. M. Website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. **Conservation genetics resources**, v. 4, n. 2, p.

359-361, 2012.

ELIAS, H. T. et al. Potencial e divergência genética em populações avançadas de feijão. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v. 7, n. 1, p. 9-15, 2008.

ELIAS, H. T. et al. Variabilidade genética em germoplasma tradicional em feijão preto em Santa Catarina. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 42, n. 10, p. 1443-1449, 2007.

ELLEGREN, H. Microsatellites: Simple sequences with complex evolution. **Nature Reviews**, v. 5, p. 435-445, 2004.

EVANS, A. M. Plant architecture and physiological efficiency in the Weld bean. In: WALL, D. (Eds.) Potentials of Weld bean and other food legumes in Latin America. CIAT, Cali, 1973. p. 279-284.

EVANS, A. M. Structure, variation, evolution, and classification in *Phaseolus*. In: , R. J.; BUNTING, A. H. (Eds) Advances in legume science. Royal Botanic Gardens, Kew, 1980. p. 337-347.

FALCONER, D.S. Introdução à genética quantitativa. Viçosa: UFV, 1987. 279p

FAO. Faostat. Crops. (2017). Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>>. Acesso em: fev. 2019.

FERRÃO, M. A. G. et al. Causas genéticas das correlações entre caracteres do feijoeiro avaliados no inverno. **Revista Ceres**, v. 48, n. 279, p. 573- 582, 2001.

FONSECA, A.F.A. et al. Divergência genética em café conilon. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.41, p.599605, 2006.

GAITÁN-SOLÍS, E. et al. Microsatellite Repeats in Common Bean (*Phaseolus vulgaris*): Isolation, Characterization, and Cross-Species Amplification in *Phaseolus* ssp. **Crop science**, v. 42, n. 6, p. 2128-2136, 2002.

GALVAN, M. Z. et al. Genetic diversity among wild common beans from northwestern Argentina based on morpho-agronomic and RAPD data. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 53, n. 5, p. 891-900, 2006.

GANNA, A. S.; SHABA, S. Z.; TSADO, E. K. Principal component analysis of morphological traits in thirty-nine accessions of rice (*Oryza sativa* L.) grown in a rainfed lowland ecology of Nigeria. **Journal of Plant Breeding and Crop Science**, v. 4, n. 6, p. 120-126, 2013.

GARCIA, R. A.V. et al. The characterization of a new set of EST-derived simple sequence repeat (SSR) markers as a resource for the genetic analysis of *Phaseolus vulgaris*. **BMC genetics**, v. 12, n. 1, p. 41, 2011.

GEPTS, P. et al. Phaseolin-protein variability in wild forms and landraces of the common bean (*Phaseolus vulgaris*): evidence for multiple centers of domestication. **Economic botany**, v. 40, n. 4, p. 451-468, 1986.

GEPTS, P.; BLISS, F. A. Phaseolin variability among wild and cultivated common beans (*Phaseolus vulgaris*) from Colombia. **Economic Botany**, v. 40, n. 4, p. 469-478, 1986.

GIOIA, T. et al. Evolution of SSR diversity from wild types to US advanced cultivars in the Andean and Mesoamerican domestications of common bean (*Phaseolus vulgaris*). **PloS one**, v. 14, n. 1, p. e0211342, 2019.

- GOMES JUNIOR, F. G. et al. Rendimento do feijoeiro de inverno em resposta à época de semeadura e adubação nitrogenada em cobertura em diferentes estádios fenológicos. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 27, n. 1, 2005.
- GRAHAM, P. H.; RANALLI, P. Common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Field Crops Research**, v. 53, n. 1-3, p. 131-146, 1997.
- HANAI, L. R. et al. Development, characterization, and comparative analysis of polymorphism at common bean SSR loci isolated from genic and genomic sources. **Genome**, v. 50, n. 3, p. 266-277, 2007.
- HANSON, P. M. et al. Performance of *Solanum habrochaites* LA1777 introgression line hybrids for marketable tomato fruit yield in Asia. **Euphytica**, v. 158, n. 1-2, p. 167-178, 2007.
- HOFFMANN JÚNIOR, L. et al. Resposta de cultivares de feijão à alta temperatura do ar no período reprodutivo. **Ciência Rural**, v. 37, n. 6, p. 1543-1548, 2007.
- INCAPER a. Instituto Capixaba de Pesquisa e Assistência Técnica Rural. Boletim Climatológico Trimestral do Espírito Santo Out – Dez 2017. Vitória, ES, 2017. 29 p. v.4, n.12.
- INCAPER b. Instituto Capixaba de Pesquisa e Assistência Técnica Rural. Boletim Climatológico Trimestral do Espírito Santo Abr – Jun 2017. Vitória, ES, 2017. 29 p. v.3, n.10.
- INCAPER. Instituto Capixaba de Pesquisa e Assistência Técnica Rural. Boletim Climatológico Trimestral do Espírito Santo Jan – Mar 2018. Vitória, ES, 2018. 30 p. v.4, n.13.
- IPGRI. Descritores para *Phaseolus vulgaris* L. Rome: International Plant Genetic Resources Institute, 2001. 45p.
- KAPOOR, R. et al. Genetic Diversity Analysis of Fodder Oats (*Avena sativa* L.) Germplasm by Microsatellite Markers. **Journal of Agricultural Science and Technology**, v. 19, n. 6, p. 1369-1379, 2017.
- KAPPES, Claudinei et al. Feijão comum: características morfo-agronômicas de cultivares. In: **Embrapa Arroz e Feijão-Artigo em anais de congresso (ALICE)**. In: CONGRESSO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO, 9., 2008, Campinas. Ciência e tecnologia na cadeia produtiva do feijão. Campinas: Instituto Agrônomo, 2008., 2008.
- KUMAR, J. et al. Correlation and path coefficient analysis of yield and its components in summer moong [*Vigna radiata* (L.) Wilczek]. **CROP RESEARCH-HISAR-**, v. 24, n. 2, p. 374-377, 2002.
- KUMAR, P. et al. Potential of molecular markers in plant biotechnology. **Plant Omics**, v. 2, n. 4, p. 141-162, 2009.
- KWAK, M.; GEPTS, P. Structure of genetic diversity in the two major gene pools of common bean (*Phaseolus vulgaris* L., Fabaceae). **Theoretical and Applied Genetics**, v. 118, n. 5, p. 979-992, 2009.
- LIMA, M. S. et al. Characterization of genetic variability among common bean genotypes by morphological descriptors. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 12, n. 1, p. 76-84, 2012.
- MACIEL, F. L. et al. Genetic relationships and diversity among Brazilian cultivars and landraces of common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) revealed by AFLP markers. **Genetic**

Resources and Crop Evolution, v. 50, n. 8, p. 887-893, 2003.

MACQUEEN, J. et al. Some methods for classification and analysis of multivariate observations. In: **Proceedings of the fifth Berkeley symposium on mathematical statistics and probability**. 1967. p. 281-297.

MIQUELONI, D. P. et al. Descrição e discriminação de variedades crioulas de feijão-caupi na Amazônia Ocidental brasileira. *Acta Iguazu*, 7(5), 49-61, 2018.

MUREKEZI, A.; OPARINDE, A.; BIROL, E. Consumer market segments for biofortified iron beans in Rwanda: Evidence from a hedonic testing study. **Food policy**, v. 66, p. 35-49, 2017.

NAGHAVI, M. R. et al. An assessment of genetic diversity in wild diploid wheat *Triticum boeoticum* from west of Iran using RAPD, AFLP and SSR markers. **Journal of Agricultural Science and Technology**, v. 11, p. 585-598, 2009.

NEGRI, V.; TOSTI, N. *Phaseolus* genetic diversity maintained on-farm in central Italy. **Genetic resources and crop Evolution**, v. 49, n. 5, p. 511-520, 2002.

OKII, D. et al. Agronomic qualities of genetic pyramids of common bean developed for multiple-disease-resistance. **African Crop Science Journal**, v. 25, n. 4, p. 457-472, 2017.

OLIVEIRA, T. C. et al. Desempenho agrônômico de cultivares de feijão em função da adubação fosfatada no sul do estado do Tocantins. **Revista Caatinga**, v. 27, n. 1, p. 50-59, 2014.

PEAKALL R.; SMOUSE, P. E. GenA1Ex 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research - an update. **Bioinformatics**, v. 28, p. 2537-2539, 2012.

PEREIRA, H. S. et al. Evaluation of export common bean genotypes in Brazil. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, v. 53, p. 276-277, 2010.

PERRIER, X.; JACQUEMOUD-COLLET, J. P. (2006) Darwin software. Disponível em: <<http://darwin.cirad.fr/darwin>> Acesso em: mar. 2018.

PERSEGUINI, J. M. K. C. et al. Developing a common bean core collection suitable for association mapping studies. **Genetics and molecular biology**, v. 38, n. 1, p. 67-78, 2015.

PERSEGUINI, J. M. K. C. et al. Genome-Wide Association Studies of Anthracnose and Angular Leaf Spot Resistance in Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **PLoS ONE**, v. 11, n. 3, 2016.

PILLAR, V. P.; ORLÓCI, L. On randomization testing in vegetation science: multifactor comparisons of relevé groups. **Journal of Vegetation Science**, v. 7, n. 4, p. 585-592, 1996

PRITCHARD, J. K.; STEPHENS, M.; DONNELLY, P. Inference of population structure using multilocus genotype data. **Genetics**, v. 155, n. 2, p. 945-959, 2000.

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

RAMOS JUNIOR, E. U.; LEMOS, L. B.; SILVA, T. R. B. Componentes da produção, produtividade de grãos e características tecnológicas de cultivares de feijão. **Bragantia**, v. 64, n. 01, p. 75-82, 2005.

RANA, J. C. et al. Characterisation of 4274 accessions of common bean (*Phaseolus vulgaris*

- L.) germplasm conserved in the Indian gene bank for phenological, morphological and agricultural traits. **Euphytica**, v. 205, n. 2, p. 441-457, 2015.
- RIBEIRO, N. D.; POSSEBON, S. B.; STROSCHEIN, M. R. D. Dissimilaridade genética entre linhagens avançadas de feijoeiro. **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 9, n. 1, p. 25-29, 2003.
- SALEHI, M.; TAJIK, M.; EBADI, A. G. The study of relationship between different traits in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) with multivariate statistical methods. **American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Science**, v. 3, n. 6, p. 806-809, 2008.
- SALGADO, F. H. M. et al Efeito do nitrogênio em feijão cultivado em terras altas no sul do estado de Tocantins. **Ambiência**, v.8, p.125-136, 2012.
- SALGADO, F. H. M. et al. Comportamento de genótipos de feijão, no período da entressafra, no sul do estado de Tocantins. **Bioscience Journal**, v. 27, n. 1, 2011.
- SCARANO, D. et al. Morphological and genetic diversity among and within common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) landraces from the Campania region (Southern Italy). **Scientia Horticulturae**, v. 180, p. 72–78, 2014.
- SCHMUTZ, J. et al. A reference genome for common bean and genome-wide analysis of dual domestications. **Nature genetics**, v. 46, n. 7, p. 707, 2014.
- SHARMA, P. N.; DIAZ, L. M.; BLAIR, M. W. Genetic diversity of two Indian common bean germplasm collections based on morphological and microsatellite markers. **Plant Genetic Resources**, v. 11, n. 2, p. 121-130, 2013.
- SIFRES, A.; BLANCA, J.; NUEZ, F. Pattern of genetic variability of *Solanum habrochaites* in its natural area of distribution. **Genetic resources and crop evolution**, v. 58, n. 3, p. 347-360, 2011.
- SILVA, J. G.; AIDAR, H.; KLUTHCOUSKI, J. Colheita direta de feijão com colhedora automotriz axial. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 39, n. 4, 2009.
- SILVA, J. G.; FONSECA, J. R. da. Colheita. In: ARAUJO, R. S.; RAVA, C. A.; STONE, L. F.; ZIMMERMANN, M. J. de O. (Coord.). Cultura do feijoeiro comum no Brasil. Piracicaba: POTAFOS, 1996. p. 523-541.
- SILVA, O. F.; WANDER, A. E. O feijão-comum no Brasil passado, presente e futuro. Santo Antônio de Goiás, Embrapa Arroz e Feijão. Documentos 287, ISSN 1678–9644; 287, 63 p, 2013.
- SIMONE, M. et al. Adaptación de variedades y líneas de judías secas (*Phaseolus vulgaris* L.) a La recolección mecanica directa. Salta: INTA, 1992. 5p.7
- SINGH, D. The relative importance of characters affecting genetic divergence. **Indian Journal of Genetics and Plant Breeding (The)**, v. 41, n. 2, p. 237-245, 1981.
- SINGH, S. P.; MOLINA, A.; GEPTS, P. Potential of wild common bean for seed yield improvement of cultivars in the tropics. **Canadian Journal of Plant Science**, v. 75, n. 4, p. 807-813, 1995.
- SINKOVIČ, L. et al. Morphological Seed Characterization of Common (*Phaseolus vulgaris* L.) and Runner (*Phaseolus coccineus* L.) Bean Germplasm: A Slovenian Gene Bank Example. **BioMed Research International**, v. 2019, 2019.

TEAM, R. Core et al. R: A language and environment for statistical computing. 2018.

TEIXEIRA, I. R. et al. Resposta do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L. cv. Pérola) a diferentes densidades de semeadura e doses de nitrogênio. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 24, n. 4, p. 399-408, 2000.

VIEIRA, C.; PAULA JÚNIOR, T.J. de; BORÉM, A. **Feijão**. 2 ed, Viçosa, 600 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, M. L. C. et al. Microsatellite markers: what they mean and why they are so useful. **Genetics and molecular biology**, v. 39, n. 3, p. 312-328, 2016.

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.

APÊNDICE

Apêndice 1. Informações dos 185 acessos de feijão comum utilizados na análise de SSR e caracterização morfoagronômica. Acesso (código do acesso), município, grupo comercial e origem.

Acesso	Municípios	Grupo comercial	Tipo
Crioulos			
Amarelo-133*	Santa Tereza	Bolinha	Crioulo
Amendoim-14*	Guaçuí	Outro***	Crioulo
Amendoim-171	Alegre	Rajado	Crioulo
Amendoim-207	Alegre	Vermelho Grande	Crioulo
Amendoim-42*	**	Outro***	Crioulo
Amendoim-43	Guaçuí	Outro***	Crioulo
Amendoim preto-40	Guaçuí	Preto	Crioulo
Baitão mamoninha-152	**	Outro***	Crioulo
Bege-135*	Santa Tereza	Jalo	Crioulo
Bico de ouro-115	Alegre	Vermelho	Crioulo
Bico de ouro-12*	Muniz Freire	Vermelho	Crioulo
Bico de ouro-120*	Guaçuí	Vermelho	Crioulo
Bico de ouro-128*	Irupi	Vermelho	Crioulo
Bico de ouro-47	Alegre	Vermelho	Crioulo
Bico de ouro-88	Alegre	Vermelho	Crioulo
Bico de ouro-98	Guaçuí	Vermelho	Crioulo
Biodinâmica-66	**	Carioca	Crioulo
Biquinho de ouro-159	**	Marrom	Crioulo
Bola cheia-77	**	Carioca	Crioulo
Bolinha-63	**	Vermelho	Crioulo
Boreal-44	**	Rajada	Crioulo
Botina-48	Alegre	Preto	Crioulo
Branco-110*	**	Branco	Crioulo
Branco-119	**	Branco	Crioulo
Branco-5*	Vitória	Branco	Crioulo
Branco pombinha-153	**	Outro***	Crioulo
Campo salis verde-123	Guaçuí	Outro***	Crioulo
Carioca-105*	Domingos Martins	Carioca	Crioulo
Carioca-122	Irupi	Carioca	Crioulo
Carioca-130	Venda Nova	Carioca	Crioulo
Carioca-175	**	Carioca	Crioulo
Carioca-27	Alegre	Vermelho	Crioulo
Carioca comum-195	Alegre	Carioca	Crioulo
Carioca pintadinho-202	**	Outro***	Crioulo
Carioca preto-203	Alegre	Carioca	Crioulo
Carioca preto e branco-79	**	Outro***	Crioulo
Carioca riscado-215	Guaçuí	Outro***	Crioulo
Carioca vermelho-168*	Alegre	Outro***	Crioulo
Cavalo marrom-160	**	Vermelho	Crioulo
Corujinha-204	Alegre	Rajado	Crioulo
Enxofre-13*	**	Outro***	Crioulo
Fava-75	**	Branco	Crioulo
Fava tico tico-34	Alegre	Outro***	Crioulo
Feijão-149*	**	Vermelho	Crioulo
Feijão-170	Alegre	Carioca	Crioulo
Feijão-181*	**	Preto	Crioulo
Feijão-182	**	Preto	Crioulo
Feijão-184	**	Preto	Crioulo
Feijão-185	**	Carioca	Crioulo

Continuação...

Feijão-60	**	Vermelho	Crioulo
Feijão-71	**	Vermelho	Crioulo
Feijão-72	**	Vermelho	Crioulo
Feijão cavalo-147	**	Vermelho Grande	Crioulo
Feijão fafa-59	**	Branco	Crioulo
Feijão pioneiro-151	**	Vermelho	Crioulo
Feijão Verde-26*	Alegre	Outro***	Crioulo
Galinha-131	Guaçuí	Marrom	Crioulo
Gargaú-106	Guaçuí	Marrom	Crioulo
IPR Uirapuru-89*	**	Preto	Crioulo
Iraí-186	**	Carioca	Crioulo
Isaiás-46	Guaçuí	Outro***	Crioulo
Macaquinho-161	Alegre	Outro***	Crioulo
Macuquinho-87	Alegre	Outro***	Crioulo
Mamoninho-85	**	Outro***	Crioulo
Manteiga-99	Alegre	Outro***	Crioulo
Manteiga amarelo-41	Guaçuí	Outro***	Crioulo
Manteiga bege claro-3*	Vitória	Jalo	Crioulo
Manteiga vermelho-2	Vila Velha	Vermelho Grande	Crioulo
Manteigão-196	Alegre	Jalo	Crioulo
Manteigão-76	**	Jalo	Crioulo
Marrom-112*	Santa Angélica	Outro***	Crioulo
Mata-mulher-15	Muniz Freire	Vermelho	Crioulo
Mauá-36	**	Outro***	Crioulo
Mulatinho-197	Alegre	Marrom	Crioulo
Mulato-198	Alegre	Marrom	Crioulo
Mulato manteigão-206	Alegre	Jalo	Crioulo
Nego doido-37	Alegre	Preto	Crioulo
Oito e nove-55	Guaçuí	Preto	Crioulo
Olho de pombo-35	Alegre	Outro***	Crioulo
Ouro vermelho-117*	**	Vermelho	Crioulo
Palhacinho-1*	Vila Velha	Outro***	Crioulo
Palhacinho-145	**	Outro***	Crioulo
Palhacinho-54	**	Outro***	Crioulo
Preto-104*	Domingos Martins	Preto	Crioulo
Preto-107	Guaçuí	Preto	Crioulo
Preto-118*	Venda Nova	Preto	Crioulo
Preto-125	Domingos Martins	Preto	Crioulo
Preto-134	Santa Tereza	Preto	Crioulo
Preto-173	Alegre	Preto	Crioulo
Preto-200	Alegre	Preto	Crioulo
Preto-214	Alegre	Preto	Crioulo
Preto-31	Alegre	Preto	Crioulo
Preto-32*	**	Preto	Crioulo
Preto-4*	Vitória	Preto	Crioulo
Preto-49	Alegre	Preto	Crioulo
Preto-50	Alegre	Preto	Crioulo
Preto-69*	**	Preto	Crioulo
Preto 60 dias-102	Ibitirama	Preto	Crioulo
Preto 90 dias-199	Alegre	Preto	Crioulo
Preto AF-154	**	Preto	Crioulo
Preto determinado-139	**	Preto	Crioulo
Preto gigante-124	Domingos Martins	Preto	Crioulo
Preto jalo-201	Alegre	Preto	Crioulo
Preto vidro-74	**	Preto	Crioulo
Quadrado-156*	**	Vermelho	Crioulo
Rim de paca-129	Guaçuí	Vermelho	Crioulo
Riscado preto-52	Iúna	Preto	Crioulo
Rosinha-179	**	Roxo	Crioulo
Rosinha carioca-205	Alegre	Outro***	Crioulo

Continuação...

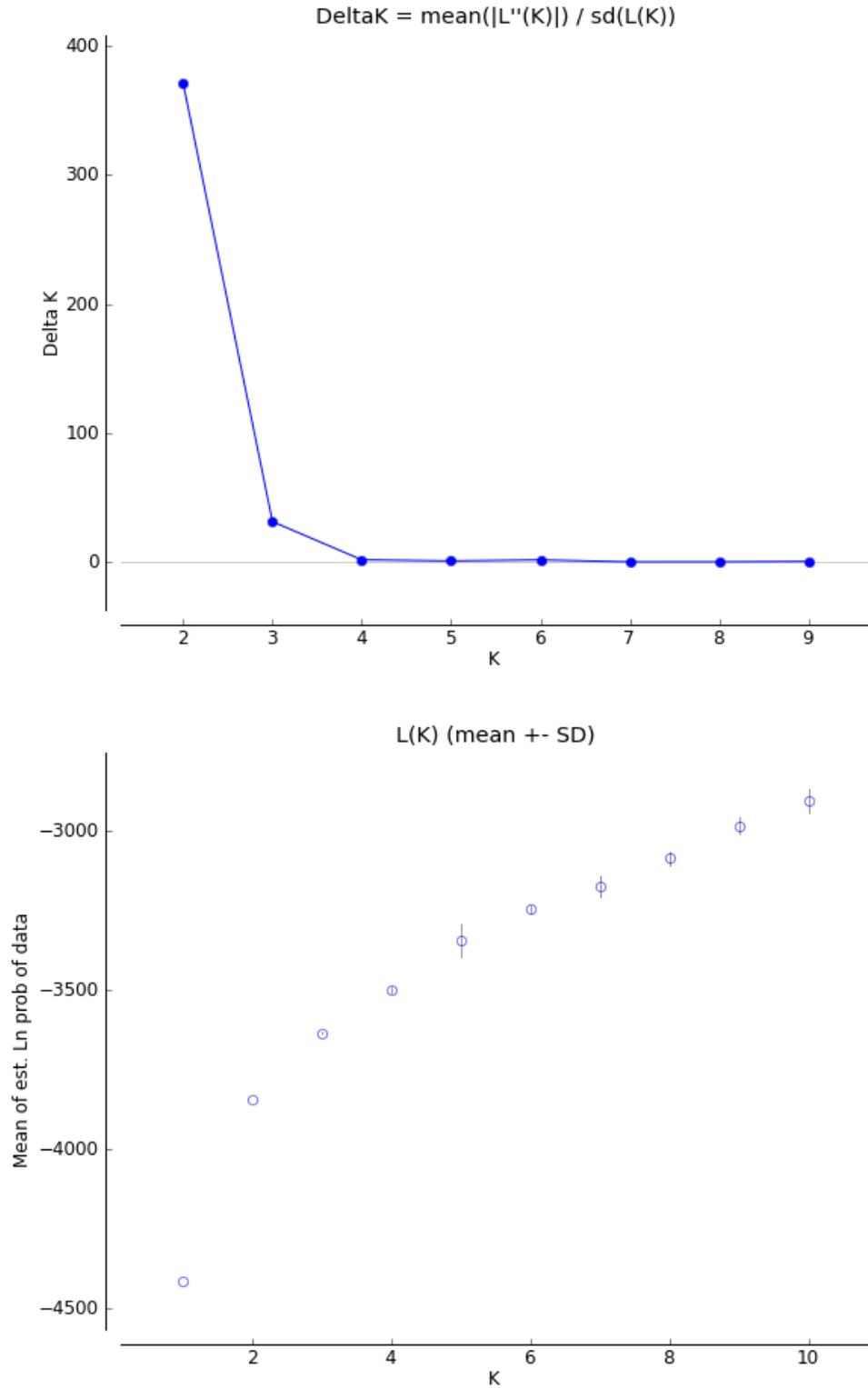
Roxinho-158	**	Vermelho	Crioulo
Roxinho-61	**	Vermelho	Crioulo
Terrinha-126	Irupi	Marrom	Crioulo
Terrinha-187	Alegre	Marrom	Crioulo
Terrinha-38	**	Marrom	Crioulo
Terrinha-39	Guaçuí	Marrom	Crioulo
Tico tico-138	**	Rajado	Crioulo
Trepador-103	Ibitirama	Preto	Crioulo
Vage riscado-97	Guaçuí	Preto	Crioulo
Vagem riscada-10*	Muniz Freire	Preto	Crioulo
Vagem riscada-11*	Muniz Freire	Preto	Crioulo
Vagem riscada-172*	Alegre	Preto	Crioulo
Vagem riscada-8*	Alegre	Preto	Crioulo
Vagem riscada-92*	Alegre	Preto	Crioulo
Vagem riscado-95	**	Preto	Crioulo
Verde-109*	Guaçuí	Outro***	Crioulo
Verde-111*	Santa Angélica	Outro***	Crioulo
Verde-114*	**	Outro***	Crioulo
Verde-53	Domingos Martins	Verde	Crioulo
Verde-68	**	Outro***	Crioulo
Verde cristo rei-81*	**	Outro***	Crioulo
Vermelhinho-62	**	Vermelho	Crioulo
Vermelho-108	Domingos Martins	Vermelho	Crioulo
Vermelho-113	Santa Angélica	Vermelho	Crioulo
Vermelho-127	Domingos Martins	Vermelho	Crioulo
Vermelho-132*	Santa Tereza	Vermelho Grande	Crioulo
Vermelho-142	**	Vermelho	Crioulo
Vermelho-146	**	Vermelho	Crioulo
Vermelho-148	**	Vermelho	Crioulo
Vermelho-17	Cachoeiro de Itapemirim	Vermelho	Crioulo
Vermelho-174*	Alegre	Vermelho	Crioulo
Vermelho-19*	**	Vermelho	Crioulo
Vermelho-213	Alegre	Vermelho Grande	Crioulo
Vermelho-70	**	Vermelho	Crioulo
Vermelho-73	**	Vermelho	Crioulo
Vermelho-78	**	Vermelho	Crioulo
Vermelho-82	**	Vermelho	Crioulo
Vermelho-83	**	Vermelho	Crioulo
Vermelho-84	**	Vermelho	Crioulo
Vermelho-86	**	Vermelho	Crioulo
Vermelho-9*	Alegre	Vermelho	Crioulo
Vermelho 1-208	Alegre	Vermelho	Crioulo
Vermelho 2-209	Alegre	Vermelho	Crioulo
Vermelho antigo-155	**	Vermelho	Crioulo
Vermelho escuro-64	**	Vermelho	Crioulo
Vermelho ouro-141	**	Vermelho	Crioulo
Vermelho tradicional-157	**	Vermelho	Crioulo
Vidro-65	**	Outro***	Crioulo
Vinho-121	Irupi	Vermelho	Crioulo
Comerciais			
BRS Pérola-22*	**	Carioca	Cultivar
BRS Notável-23*	**	Carioca	Cultivar
BRS Estilo-24*	**	Carioca	Cultivar
IPR Colibri-25*	**	Carioca	Cultivar
BRS Campeiro-28	**	Preto	Cultivar
Capixaba Precoce-29	**	Preto	Cultivar
BRS Esplendor-30*	**	Preto	Cultivar
Pontal-51	**	Carioca	Cultivar
Cometa-137	**	Carioca	Cultivar
BRS Estilo-140	**	Carioca	Cultivar

Continuação...

BRS Notável-150*	**	Carioca	Cultivar
Emcapa 404 Serrano-176	**	Preto	Cultivar
Emcapa 404 Serrano-180*	**	Preto	Cultivar
BRS Notável-189	**	Carioca	Cultivar
BRS Pontal-190	**	Carioca	Cultivar
BRS Pérola-191	**	Carioca	Cultivar
BRS Ametista-192	**	Carioca	Cultivar
BRS Estilo-193	**	Carioca	Cultivar
BRS Agreste-194	**	Mulatinho	Cultivar
CNFC 15625-20*	**	Carioca	Linhagem
CNFC 15462-21*	**	Carioca	Linhagem
CNFP 15310-90	**	Preto	Linhagem
CNFP 15290-91	**	Preto	Linhagem
CNFC 15475-93	**	Carioca	Linhagem
CNFP 15302-177	**	Preto	Linhagem
CNFC 15502-178	**	Carioca	Linhagem
CNFP 15304-32	**	Preto	Linhagem

* acessos de feijão comum que foram utilizados em três experimentos em condições de campo; ** sem identificação do município de coleta; *** tipo comercial não identificado.

Apêndice 2. (a) Verossimilhança média ($\ln(L(K)) \pm \text{s.d.}$) e (b) delta K (média ($|L''(K)|$) / s.d ($L'(K)$)) valores de 10 iterações, cada um obtido pelo programa STRUCTURE HARVESTER para determinar o número mais provável de agrupamentos das 185 amostras de feijão comum.



Apêndice 3. Médias dos 12 caracteres quantitativos de 50 acessos de feijão comum.

Acesso	DIAM	ALT	NN	NR	NRP	APV	NVP	NLP	NSP	MG	P100	RG
1-Palhacinho	4,60	38,40	4,88	3,81	3,40	16,37	7,92	37,11	26,66	9,92	35,58	1.983,82
3-Manteiga bege claro	4,61	53,23	5,60	3,75	2,77	26,87	4,97	24,87	18,89	8,32	46,30	1.663,83
4-Preto	4,91	65,82	9,93	3,56	2,75	21,84	9,15	51,80	40,45	6,83	19,27	1.365,77
5-Branco	6,57	47,24	6,71	6,16	5,09	17,45	13,34	50,40	40,43	20,31	58,28	4.062,30
8-Vagem riscada	5,56	87,89	10,25	3,61	3,19	22,98	12,26	76,96	60,56	10,94	16,37	2.187,14
9-Vermelho	4,48	44,96	8,08	3,95	3,68	19,66	9,26	57,83	46,67	8,33	20,85	1.666,89
10-Vagem riscada	5,44	78,18	9,27	4,08	3,38	20,80	12,32	75,75	59,47	10,39	17,20	2.078,00
11-Vagem riscada	5,71	59,78	9,35	4,47	3,64	15,99	11,36	64,00	56,90	8,96	18,73	1.791,27
12-Bico de ouro	4,57	70,02	9,61	3,05	2,65	17,38	8,89	58,24	44,66	8,06	23,85	1.612,49
13-Enxofre	4,59	65,90	10,64	3,69	3,15	17,04	11,50	65,64	59,01	9,51	17,47	1.901,54
14-Amendoim	5,23	46,55	7,57	4,93	4,25	17,50	10,96	49,14	38,51	12,65	34,82	2.529,36
18-Feijão rainha	5,50	82,21	8,72	4,64	4,30	14,32	12,94	57,18	44,95	19,79	29,49	3.958,86
19-Vermelho	5,04	70,76	10,03	4,65	3,65	20,04	12,03	73,15	60,53	12,97	19,17	2.594,22
20-CNFC 15625	4,40	50,01	7,38	4,09	3,92	16,58	11,32	67,15	51,19	13,70	27,10	2.740,71
21-CNFC 15462	5,07	59,48	8,92	3,13	2,64	16,91	9,40	57,91	45,73	10,89	21,28	2.177,55
22-BRSPérola	5,88	94,88	9,31	4,42	4,06	15,24	14,31	90,64	69,61	17,96	25,54	3.591,79
23-BRS Notável	4,76	65,30	9,44	3,31	2,84	16,88	11,96	66,20	54,99	11,95	22,15	2.389,67
24-BRS Estilo	5,24	58,43	9,53	3,80	3,18	14,83	10,28	61,24	48,64	12,23	27,86	2.446,88
25-IPR Colibri	4,20	43,70	7,14	4,33	4,03	15,34	12,28	69,68	56,30	13,52	25,99	2.704,19
26-Feijão Verde	4,63	44,19	6,56	4,06	3,39	21,61	8,54	41,78	32,54	11,47	32,38	2.294,47
30-BRS Esplendor	5,24	57,15	9,45	3,92	3,60	13,16	12,58	76,12	63,25	10,29	18,92	2.057,04
32-CNFP 15304	4,62	62,78	8,19	3,88	3,59	19,08	10,38	54,19	47,35	11,99	25,45	2.397,24
42-Amendoim	4,87	90,78	8,25	3,16	2,91	16,40	7,88	39,14	31,38	10,89	34,47	2.178,26
68-Verde 02	4,93	44,21	5,31	4,66	3,62	21,00	9,03	43,36	34,88	9,25	23,11	1.850,41
69-Preto 13 (09)	6,58	75,83	11,26	4,29	3,70	18,58	16,57	106,32	87,18	18,03	20,49	3.605,52
81-Verde Cristo Rei 01 (102)	4,48	42,41	6,12	4,16	3,53	20,10	8,59	34,36	28,78	9,90	28,52	1.980,49
89-IPR Uirapuru	5,37	60,26	10,12	2,64	2,21	18,71	9,78	61,33	51,22	10,64	24,90	2.127,18
92-Vagem Riscada	4,84	77,60	8,92	2,95	2,70	15,19	11,42	62,05	55,71	13,04	24,82	2.608,01
104-Preto	4,71	38,32	5,02	3,98	3,48	17,26	7,99	35,95	30,08	10,23	32,87	2.046,22
105-Carioca	5,22	86,47	8,96	3,26	3,16	16,20	10,71	69,18	52,58	12,46	26,97	2.492,22
109-Verde	4,69	46,92	6,52	4,21	3,44	17,05	9,23	48,97	36,75	9,60	30,77	1.919,94
110-Branco	5,59	66,23	7,47	5,09	4,52	16,78	14,86	78,46	57,92	16,68	30,80	3.335,98
111-Verde	5,02	42,98	7,40	4,05	3,71	17,09	11,51	56,53	44,39	15,48	38,21	3.096,87
112-Marrom	5,85	71,83	7,04	4,86	4,00	23,40	12,87	61,75	51,37	12,78	22,52	2.555,87
114-Verde	4,23	51,22	6,23	3,37	2,81	20,71	7,52	30,86	25,48	6,07	24,09	1.214,39
117-Outro Vermelho	4,59	74,75	8,76	4,37	3,42	19,53	10,06	50,21	40,41	8,30	23,71	1.659,06
118-Preto	4,93	71,35	9,28	3,48	2,82	17,95	9,21	52,32	42,60	7,90	19,17	1.580,20
120-Bico de Ouro	4,48	76,84	8,72	3,65	3,09	17,86	11,11	59,14	49,86	11,45	25,55	2.289,01
128-Bico de Ouro	4,15	64,99	9,45	3,67	3,27	18,20	11,06	57,03	47,77	10,68	22,03	2.135,53
132-Vermelho	4,95	35,68	6,18	4,84	4,34	17,26	10,06	38,86	27,57	10,36	34,78	2.071,02
133-Amarelo	4,75	45,09	6,55	4,18	3,38	23,09	7,72	41,12	30,54	10,42	29,21	2.083,10
135-Bege	15,87	49,71	6,81	4,09	3,48	25,12	8,39	45,46	34,07	12,69	38,28	2.538,24
149-Feijão 04	4,44	44,60	9,50	3,56	3,21	14,31	11,16	63,47	50,41	10,16	21,61	2.031,89
150-Notável	4,59	54,88	9,36	3,87	3,28	17,96	11,91	56,65	46,48	8,01	21,77	1.601,32
156-Nº 10 Quadrado	4,37	43,31	8,69	3,64	3,33	13,68	11,03	63,77	50,12	11,13	27,56	2.225,00
168-Carioca Vermelho	4,15	79,49	9,68	3,73	3,10	17,98	9,80	53,52	42,19	7,34	19,00	1.467,70
172-Vagem Riscada	5,65	74,80	9,96	4,37	3,87	20,89	13,55	77,73	60,72	10,45	18,17	2.090,77
174-Vermelho	4,43	81,25	9,22	4,14	3,65	20,84	9,20	56,73	46,11	9,53	24,43	1.906,53
Emcapa 404 Serrano-180	4,45	64,42	9,44	2,90	2,32	18,48	9,86	56,25	40,39	7,21	19,61	1.441,30
181-Supremo	5,40	53,51	8,06	3,11	2,83	14,99	9,43	60,08	49,29	10,47	25,50	2.094,57

DIAM: diâmetro do caule em mm; ALT: altura da planta em cm; NN: número de nós à colheita; NR: número de racemos; NRP: número de racemos produtivas; APV: altura da primeira vagem em cm; NV: número de vagens por planta; NLP: número de lóculos por vagem; NSV: número de sementes por vagem; MG: massa de grãos por planta em g.planta⁻¹; P100: peso em gramas de 100 sementes em g; RG: rendimento de grãos em kg.ha⁻¹.

CAPÍTULO II - Feijoeiros cultivados em sistema de agricultura familiar no estado do Espírito Santo e relação com cultivares comerciais Brasileiras

Resumo. O feijão-comum (*Phaseolus vulgaris* L.) é uma importante fonte de proteínas, fibras e minerais para os humanos, sendo cultivada principalmente nos países em desenvolvimento, representando assim uma fonte de renda para pequenos agricultores. O estado do Espírito Santo é reconhecido por uma agricultura predominantemente familiar, o que propicia a ocorrência de acessos crioulos, que são selecionados e conservados pelas famílias ao longo das gerações. Esses acessos são recursos genéticos valiosos por apresentarem variações genéticas que podem ser disponibilizadas para o melhoramento da cultura. Neste trabalho um conjunto composto por 206 acessos crioulos e 59 linhagens elite e cultivares foram genotipados com 23 marcadores SSRs (*Simple Sequence Repeats*) e 251 SNPs (*Single Nucleotide Polymorphisms*). Os 23 SSRs foram polimórficos e amplificaram em 95% dos genótipos. Dos 251 SNPs, 217 foram polimórficos e amplificaram em 90% dos genótipos. Os 23 SSRs tiveram melhor desempenho na avaliação da diversidade genética ($\bar{A} = 10,74$; $He = 0,678$; $PIC=0,65$; $PI = 5,70 \times 10^{-23}$) em comparação com os 217 SNPs ($\bar{A} = 2,00$; $He = 0,34$; $PIC= 0,27$; $PI = 8,20 \times 10^{-67}$). O número ideal de grupos pela análise do software STRUCTURE foi $K=2$ para os SNPs e SSRs, o que é esperado, em virtude dos dois pools gênicos – Andino e Mesoamericano. Os SNPs permitiram maior diferenciação interpoolgênico ($K = 2$, $FST = 0,372$). As matrizes de Dissimilaridade de Simple Correspondência genética para SSRs e SNPs foram altamente correlacionadas ($r = 0,74$; $0,005$) e, portanto, os dados alélicos dos marcadores foram combinados e analisados para entender as relações genéticas na coleção estudada. A análise de *neighbor joining* considerando a distância genética de coincidência simples agrupou os 265 genótipos em 17 subgrupos. Os marcadores SSR e SNP apresentaram alto poder discriminatório entre os genótipos. A ampla diversidade genética observada na coleção de trabalho a torna uma fonte valiosa para a conservação, manejo sustentável e exploração em programas de melhoramento para a cultura.

Palavras-chaves: Melhoramento. *Phaseolus vulgaris* L. *Simple Sequence Repeat*. *Single Nucleotide Polymorphisms*.

CHAPTER II - Diversity genetic and structure of common bean landraces and commercial via SSR and SNP markers

Abstract. Common bean (*Phaseolus vulgaris* L., Fabaceae) is an important source of protein, fiber and minerals for humans, being grown mainly in developing countries and providing a source of income for small farmers. The state of Espírito Santo is recognized by a predominantly family-oriented agriculture, which leads to the occurrence of landrace accesses, which are selected and preserved by families throughout the generations. These accesses are valuable genetic resources because they present genetic variation that can be made available for the improvement of the culture. In this work a set consisting of 206 landraces accessions and 59 commercial accessions were genotyped with 23 SSRs (Simple Sequence Repeats) and 251 SNPs (Single Nucleotide Polymorphisms). The 23 SSRs were polymorphic and amplified in 95% of the cases. Of the 251 SNPs 217 were polymorphic and amplified in 90% of the accessions. The 23 SSRs performed better in assessing genetic diversity ($\bar{A} = 10.74$, $H_e = 0.678$, $PIC = 0.65$, $PI = 5.7 \times 10^{-23}$) compared to 217 SNPs ($\bar{A} = 2$; $H_e = 0.34$, $PIC = 0.27$, $PI = 8.2 \times 10^{-67}$). The ideal number of groups by analysis of the STRUCTURE software was $K = 2$ for the SNPs and SSRs. Considering the position of the control cultivars and the grain morphology the Andean and Mesoamerican gene pools are present in the studied samples. The SNPs allowed greater inter-spatial differentiation ($K = 2$, $F_{ST} = 0.372$). The matrices of Simple Genetic Correspondence Dissimilarity for SSRs and SNPs were highly correlated ($r = 0.74$, 0.005) and therefore the allelic data of the markers were combined and analyzed to understand the genetic relationships in the collection studied. The neighbor joining analysis considering the simple coincidence genetic distance grouped the 265 accessions into 17 subgroups. The SSRs and SNPs presented high discriminatory power among the accessions and can be integrated in molecular breeding programs of the bean. The broad genetic diversity observed in the work collection makes it a valuable source for conservation, sustainable management and exploration in breeding programs for the crop.

Keywords: Improvement. *Phaseolus vulgaris* L. Simple Sequence Repeat. Single Nucleotide Polymorphisms.

1 INTRODUÇÃO

O feijão-comum (*Phaseolus vulgaris* L.) é uma leguminosa de importância social e

econômica, sendo amplamente utilizada para o consumo humano nos países em desenvolvimento (BROUGHTON et al., 2003; ANGIOI et al., 2010). A espécie constitui uma fonte importante de proteína, fibra alimentar e carboidratos complexos, especialmente para os grupos de baixa renda (CASTRO-ROSAS et al., 2015; SANTIAGO-RAMOS et al., 2018). O feijão é cultivado em 126 países com uma área plantada anual estimada em 30,1 milhões de hectares e com produção estimada de 27,9 milhões de toneladas. O Brasil destaca-se como o terceiro maior produtor, com produção de ~2,6 milhões de toneladas (FAO, 2017).

O feijão-comum é uma espécie predominantemente autógama, com taxas de fecundação cruzada de aproximadamente 3% (RAMALHO; ABREU, 2006), possui genoma diploide com 11 cromossomos ($2n = 2x = 22$) e tamanho estimado de ~587 Mpb (BENNETT; LEITCH 1995, SCHMUTZ et al., 2014). A espécie originou-se na Mesoamérica (BITOCCHI et al., 2012) e em seguida passou por dois eventos de domesticação independentes dando origem ao pool gênico mesoamericano e ao andino (GEPTS et al., 1986; GEPTS 1988; KWAK; GEPTS, 2009). Estima-se que a divergência entre os pools gênicos tenha ocorrido há ~165.000 anos atrás (SCHMUTZ et al., 2014). Genes relacionados a características agrônômicas importantes aos programas atuais de melhoramento, como floração, altura da plantas e metabolismo de nitrogênio, foram identificados como estando sob seleção durante o processo de domesticação (SCHMUTZ et al., 2014). Os genótipos do pool gênico andino geralmente possuem grãos grandes e a proteína faseolina tipo S, enquanto os mesoamericanos apresentam grãos pequenos ou médios e faseolina tipo T (GEPTS et al. 1986).

O melhoramento do feijão é beneficiado pela agricultura familiar, que seleciona genótipos estáveis e adaptados a ambientes específicos, o que representa um recurso genético importante para a manutenção da biodiversidade e segurança alimentar, além de possuir vantagens, tais como: alto rendimento, maior eficiência no uso de nutrientes do solo, resistência a pragas e doenças, além de tolerância a estresses abióticos. No Brasil, a agricultura familiar é considerada uma alternativa econômica com potencial de expansão, visto que em 99,08% das fazendas são plantados cerca de 50 hectares com feijão, em 0,77% são plantados de 50 a 200 hectares e em 0,15% são plantados com mais de 200 hectares (SILVA; WANDER, 2013). A maior diversidade em acessos crioulos em relação às cultivares comerciais é frequentemente demonstrada (EMYGDIO et al., 2003, MACIEL et al., 2003; PERSEGUINI et al; 2016), bem como maior similaridade entre cultivares derivadas do mesmo programa de melhoramento (MACIEL et al., 2003). No estado do Espírito Santo, das 84 mil propriedades rurais, 80% são de agricultura familiar, que geralmente são pequenas e responsáveis por 44% da produção rural. A produção de feijão é distribuída em quase todas as

regiões (INCAPER, 2016), sugerindo a importância do estado como um reservatório de diversidade genética e rusticidade para a cultura, porém, ainda não caracterizado e conhecido.

Para o melhoramento do feijão-comum, conjuntos de marcadores moleculares de DNA amplamente polimórficos e representativos do genoma têm sido utilizados como ferramenta auxiliar em etapas cuja seleção dos genótipos superiores com base na diversidade genética é desejável. Os SNPs são os marcadores mais abundantes no genoma e menos suscetíveis à saturação em escalas evolutivas profundas, enquanto os SSRs são altamente polimórficos entre indivíduos de uma espécie e entre populações que divergiram recentemente. Portanto, para o levantamento ideal da diversidade genética em feijoeiro é conveniente considerar tanto os marcadores SNP quanto os marcadores SSR (CORTES, et al. 2011), pois podem gerar informações distintas e complementares. Muller et al. (2015) utilizou um conjunto de SSR polimórficos combinados em multiplex, que permitiu verificar uma ampla diversidade genética em feijões crioulos e em cultivares brasileiras. Com a redução do custo da genotipagem por sequenciamento, atualmente também está disponível um grande conjunto de marcadores SNPs, cada vez mais atraente para aplicações rotineiras em programas de melhoramento genético (MAMMADOV et al., 2012). O desenvolvimento de um BeadChip com cerca de 6000 SNPs, baseado em polimorfismo entre classes comerciais de feijão andino e ancoragem em scaffolds no genoma (BARCBear6K_3), foi realizado por Song et al. (2015), permitindo amostragem com qualidade de todo o genoma do feijão andino para as diferentes aplicações no melhoramento. Entretanto, para uso rotineiro, uma amostra dos SNPs utilizados neste BeadChip pode reduzir custos e viabilizar a utilização efetiva no melhoramento, priorizando, por exemplo, os marcadores polimórficos no germoplasma de interesse.

Neste trabalho objetivou-se analisar o potencial dos recursos genéticos dos feijões cultivados no estado do Espírito Santo, predominantemente de cultivo de base familiar, bem como compará-los às linhagens elite e cultivares oriundas de distintos programas de melhoramento do Brasil. Adicionalmente, foram utilizados marcadores SSR e SNP, o que permitiu a comparação tanto dos diferentes marcadores utilizados, quanto dos genótipos avaliados em relação a trabalhos na literatura.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material vegetal

O presente estudo foi conduzido com 265 genótipos de feijão-comum, dos quais 206 acessos são crioulos, coletados no estado do Espírito Santo, e 59 linhagens elite e cultivares

fornecidas pela Embrapa Arroz e Feijão e Incaper (Apêndice 1). Dos 206 acessos, 128 possuem dados dos locais de colheita referentes aos seguintes municípios: Afonso Cláudio (1 acesso), Alegre (38), Alfredo Chaves (5), Cachoeiro de Itapemirim (1), Colatina (8), Domingos Martins (10), Guaçuí (14), Ibitirama (1), Irupi (4), Iúna (11), Linhares (5), Muniz Freire (4), Santa Tereza (4), Venda Nova (4), Vila Velha (2) e Vitória (6) (Figura 1). Os cultivares comerciais foram escolhidas para representar diferentes programas de melhoramento genético brasileiros, incluindo: uma cultivar da Empresa AgroNorte (Agro Norte Pesquisa e Sementes Ltda.), 36 da Embrapa Arroz e Feijão, cinco do IAC (Instituto Agrônômico); nove do IAPAR (Instituto Agrônômico do Paraná); quatro do Incaper (Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural); três do TAA (Agropecuária Terra Alta Ltda.) e um da UFV (Universidade Federal de Viçosa) (Apêndice 1).

Os genótipos avaliados representam 13 classes comerciais: bolinha (2 acessos), branco (4), calima (1), carioca (51), outros (37), jalo (12), mulatinho (4), preto (69), rajado (11), rosinha (7), roxo (1), vermelho (61) e DRK (*Dark Red Kidney*) (3) (Apêndice 1).

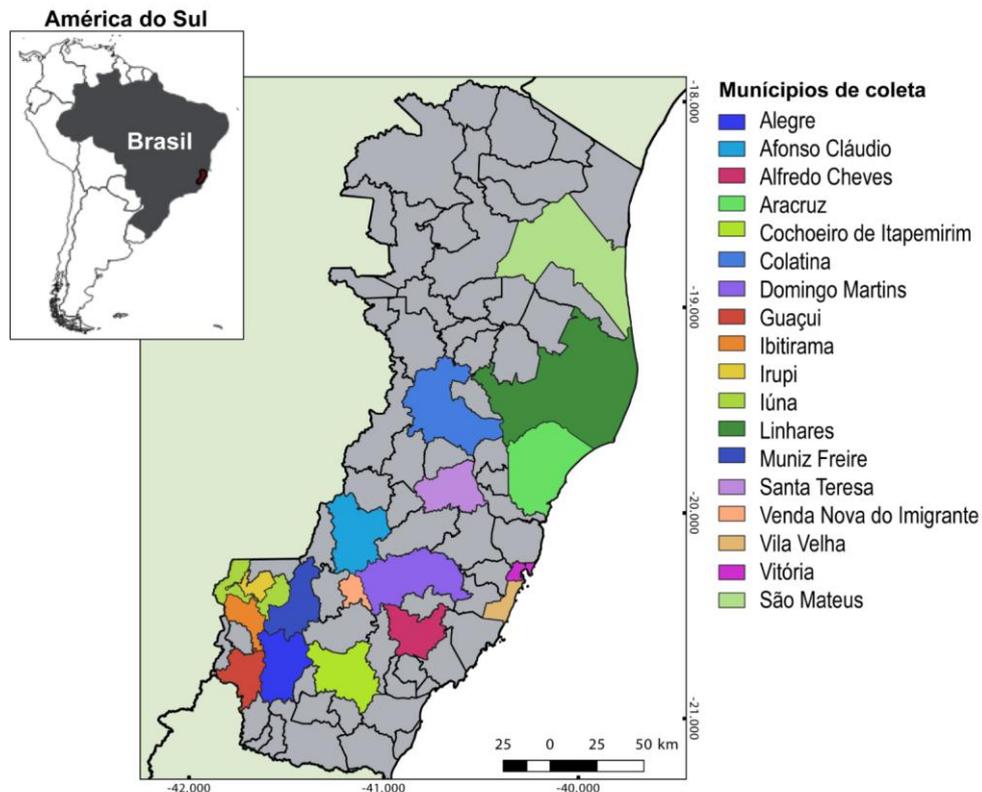


Figura 1. Municípios do estado do Espírito Santo nos quais foram coletados os acessos de feijão-comum cultivados por produtores locais. A legenda de cores indica os municípios de coleta no mapa.

2.2 Genotipagem com marcadores SSR

O DNA foi extraído a partir do tecido foliar amostrado de plantas individuais de cada acesso, seguindo o método CTAB (DOYLE; DOYLE, 1990). As concentrações e integridade do DNA foram estimadas com o uso de espectrofotômetro *Nanodrop*TM2000 (*Thermo Scientific*). A genotipagem com os marcadores SSR foi realizada utilizando um conjunto de 23 marcados SSR com fluorescência e analisados em sistema de amplificação multiplex composto por cinco a seis locos SSR na mesma reação (Apêndice 2) (VALDISSER et al., 2013). A amplificação dos locos SSR foi realizada com o kit Qiagen® PCR Multiplex (Qiagen, Hilden, NRW, Alemanha), seguindo as instruções do fabricante em um volume final de 5,0 µL. As amplificações foram conduzidas em um termociclador ABI 9700 (*Applied Biosystems*), seguindo os parâmetros estabelecidos por Valdisser et al. (2013). A eletroforese capilar dos produtos amplificados foi feita com um sequenciador ABI 3500xL (*Applied Biosystems*), usando o marcador GeneScan 500 ROX SizeStandart (Life Technologies) com peso molecular conhecido. A genotipagem final foi realizada com software GeneMapper (*Applied Biosystems*). Esses procedimentos foram realizados no Laboratório de Biotecnologia da Embrapa Arroz e Feijão (Santo Antônio de Goiás, GO, Brasil).

2.3 Genotipagem com marcadores SNP

A genotipagem com os marcadores SNP foi realizada no Genomics Market Development Laboratory, GeneSeek (Lincoln, NE, EUA), utilizando o SNP-Sequenom Chip constituído por cerca de 250 SNPs, desenvolvido pela equipe de pesquisa da Embrapa (data not published; available under request), na plataforma de genotipagem Sequenom[®], utilizando as recomendações do fabricante. Estes SNPs foram selecionados a partir do BeadChip BARCBean6K_3 desenvolvido por Song et al (2015), com base em sua distribuição no genoma e o conteúdo de informação polimórfico (PIC) no germoplasma mesoamericano, o mais amplamente explorado no Brasil.

2.4 Análises estatísticas

As análises de diversidade genética foram realizadas utilizando o número alélico (*NA*), alelos privados (*AP*), diversidade genética (*He*), heterozigosidade observada (*Ho*), índice de fixação (*f*) e conteúdo de informação polimórfica (*PIC*), com o auxílio do software Genes

(CRUZ, 2013). A menor frequência alélica (*MAF*) e a probabilidade de identidade (*PI*) foi obtida utilizando o programa GenAlex v6.5 (PEAKALL; SMOUSE, 2012).

Uma análise de agrupamento *Baeyiano* foi realizada no software STRUCTURE 2.3.4 (PRITCHARD et al., 2000) sem nenhuma informação de grupos *a priori*, a fim de determinar a classificação provável dos genótipos. O conjunto do número de corridas foi executado com um *burnin* de 250.000 interações, seguido por 750.000 iterações MCMC (Monte Carlo Markov Chain) com 10 simulações independentes. Os valores de K testados variaram de 1 a 10. Para encontrar o melhor K foi usado o método ΔK de Evanno et al. (2005), implementado no STRUCTURE HAVESTER (EAR; VONHOLDT, 2011). O software CLUMPP versão 1.1.2 (JAKOBSSON; ROSENBERG, 2007) foi utilizado para obter uma matriz consenso com base nas 10 simulações e os gráficos foram visualizados utilizando o software DISTRUCT 1.1 (ROSENBERG, 2004). De posse dos resultados da estruturação populacional e com as estimativas de atribuições de cada acesso a cada grupo, foi realizado um novo ordenamento dos acessos de acordo com os grupos pertencentes. Os acessos foram atribuídos aos grupos de acordo com seus valores médios de probabilidade de associação (Q_{ik}), em que Q_{ik} é a proporção estimada do genoma do genótipo i derivado da população k (PRITCHARD et al., 2000). Foi assumindo que valores com Q_{ik} acima 0,5 indicam o grupo ao qual os acessos pertencem.

O agrupamento dos genótipos foi obtido usando o método *neighbor joining* baseados na matriz de dissimilaridade de correspondência simples com 1.000 iterações de *bootstrap* implementada no programa DARwin 5.0 (PERRIER; JACQUEMOUD-COLLET, 2006) de acordo com:

$$d_{ij} = 1 - \frac{1}{L} \sum_{l=1}^L \frac{m_l}{\pi}$$

onde: d_{ij} : dissimilaridade entre as unidades i e j ; L : número de loci; m_l : número de alelos correspondentes para locus l ; e π : ploidia.

Além disso, foi realizada uma análise de coordenadas principais (PCoA) com GenAIEx (PEAKALL; SMOUSE, 2007) a fim de fornecer suporte adicional para os grupos populacionais identificados. As matrizes de distância genética obtidas para os conjuntos de dados SSRs e SNPs foram utilizadas para correlação usando o teste de Mantel implementado no GenAIEx (PEAKALL; SMOUSE, 2007).

A análise de variância molecular (AMOVA) foi realizada para testar a estrutura da diversidade genética entre os grupos obtidos pela análise do STRUCTURE, bem como entre

linhagens elite/cultivares e acessos crioulos dentro de cada grupo, usando o programa Arlequin v3.5 (EXCOFFIER; LISCHER 2010) com 10.000 permutações. A variabilidade genética interpopulacional foi estimada pela estatística F de Wright (1951), de acordo com os métodos de Weir e Cockerham (1984), sendo calculado o índice de fixação dentro das populações (*FIS*); índice de fixação total (*FIT*) e a divergência genética entre populações (*FST*). Para isso, foi utilizado o software FSTAT 2.9.3.2 (GOUDET, 1995), empregando o método de reamostragem bootstrap com 95% de intervalo de confiança e 1.000 permutações.

3 RESULTADOS

Dos 251 SNPs selecionados para estudar a diversidade genética, oito foram monomórficos e 24 apresentaram mais de 10% de dados perdidos, os quais foram retirados das análises, sendo então considerados nas análises um total de 217 SNPs. Todos os onze cromossomos de feijão foram representados, dos quais o cromossomo oito foi o mais amostrado (30 SNPs) e o cromossomo seis em menor intensidade (16 SNPs). Para a coleção completa de genótipos, a probabilidade de identidade (*PI*) combinada foi de $8,2 \times 10^{-674}$ (Tabela 1). Os valores do conteúdo de informações polimórficas (*PIC*) são um reflexo da diversidade e frequência de alelos e indicam a qualidade do marcador. Neste estudo, o *PIC* variou de 0,01 a 0,37, com média de 0,27 (Figura 2). Um total de 23 SNPs apresentou *PIC* menor que 0,10. O número total de alelos foi 439, com média de dois por *locus*. A frequência alélica mínima variou de 0,01 (Bean-160) a 0,49 (Bean-202). Considerando os 265 acessos analisados, a heterozigosidade esperada (*He*) variou de 0,01 a 0,50, com média de 0,34, enquanto a *Ho* variou de 0,00 a 0,22 com média de 0,001.

Um alto nível de informação polimórfica foi verificado nos 23 SSR utilizados, os quais permitiram a detecção de 272 alelos, com média de 10,74 por loci. A quantidade de alelos por loci variou de 2 (PVBR251) a 28 (BM154). A *PI* obtida pela combinação de todos os loci foi de $5,7 \times 10^{-23}$ (Tabela 1). O *PIC* variou de 0,25 (PVBR251) a 0,90 (BM154), com média de 0,65, evidenciando que em conjunto os marcadores são muito informativos (Apêndice 2, Figura 2). A média da *He* no valor de 0,678 indica elevada diversidade genética. A *Ho* média no valor de 0,044 foi menor que a *He*, sugerindo excesso de homozigotos em relação ao modelo de equilíbrio de Hardy-Weinberg. Este padrão é confirmado pelo índice de fixação (*f*), em que todos os marcadores foram positivos e com média de 0,940 (Apêndice 2).

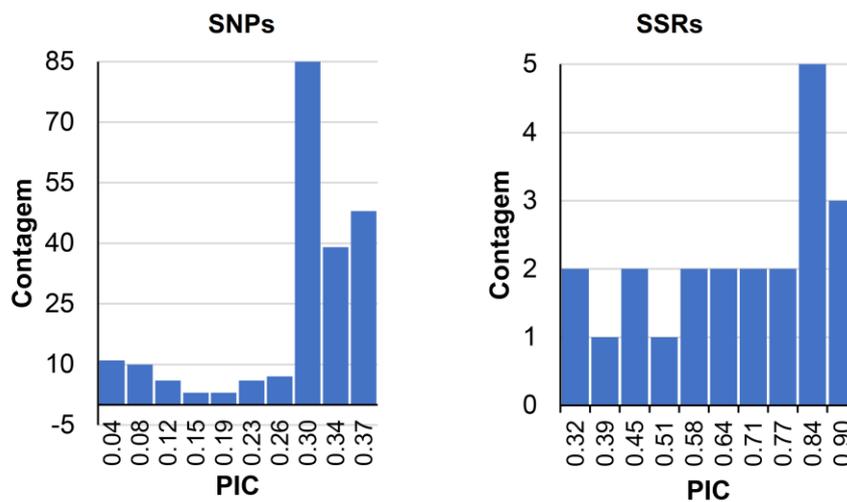


Figura 2. Distribuição dos valores de conteúdo de informação polimórficas nos 217 locos SNP e 23 locos SSR utilizados nas análises de diversidade genéticas dos 249 genótipos de feijão comum.

Estudos com diferentes tipos de marcadores têm demonstrado que coleções brasileiras de variedades crioulas e comerciais de feijão são compostas de acessos tanto de reservatórios gênicos mesoamericanos quanto andinos e que existe uma forte diferenciação entre esses dois reservatórios gênicos. Os acessos do presente trabalho foram classificados em dois grupos conforme o resultado de uma análise realizada no software STRUCTURE, a qual apresentou o melhor delta $K = 2$, tanto pelos dados de microssatélites quanto de SNPs. A atribuição dos acessos aos grupos foi realizada com base nos coeficientes de associação posteriores (Q_{ki}) assumindo que valores acima 0,50 indicam o grupo ao qual os acessos pertencem. Das 59 cultivares comerciais, 47 foram provenientes do Banco Ativo de Germoplasma da Embrapa Arroz e Feijão, das quais oito pertencem ao pool gênico Andino e 39 ao Mesoamericano conforme referido por Müller et al., 2015. Considerando o resultado $K=2$ do STRUCTURE, os oito cultivares testemunhas do pool gênico andino ficaram alocados em um dos grupos e os 39 do mesoamericano ficaram no outro. Estes grupos foram considerados como correspondentes ao pool gênico andino (designado com AND) e mesoamericano (MES). Percebeu-se que 16 acessos, todos crioulos, ocuparam grupos divergentes em relação aos resultados dos SNPs e SSRs, os acessos foram: Rim de paca (129), Amendoim (171), Vermelho (249), Verde (114), Botina (48), Branco (5), Vermelho (142), Vagem Riscada (172), Quadrado (156), Preto (49), Carioca Vermelho (168), Riscado Preto (52), Macuquinho (87), Preto (134) e Preto 60 dias (102). Esses 16 acessos necessitam de mais estudos para uma

classificação exata quanto ao grupo mesoamericano e andino. Os SNPs são descritos como marcadores mais eficientes na classificação entre pools gênicos e os SSRs dentro de pool gênico. Entretanto, no presente estudo, os SSR se mostraram mais promissores para tal classificação, classificando os 16 acessos entre os grupos de acordo com o tamanho dos grãos.

Considerando os dois conjuntos de marcadores (SSRs e SNPs) e os 249 acessos remanescentes, os grupos formados foram compostos por genótipos com padrão de sementes característicos. Um grupo AND foi formado por oito cultivares testemunhas representantes do grupo andino e 49 acessos crioulo; o MES por 46 cultivares comerciais representantes do grupo mesoamericano e 146 acessos crioulo.

Os gráficos de barra obtidos pelo STRUCTURE também fornecem informações sobre o nível de mistura nas amostras estudadas. Foi assumido que os coeficientes posteriores abaixo de 0,80 podem indicar hibridismo. Considerando os marcadores SSR, foram detectados dois híbridos (o feijão rajado-302 e o Preto vidro-74). Nos marcadores SNP foram detectados três híbridos (Branco-235, Feijão rajado-302 e Feijão fradinho-248) (Apêndice 3). O grupo AND foi preservado para $K = 2, 3$ e 4 (grupo vermelho) para os conjuntos de marcadores SSR, SNPs e a combinação SSR + SNP, respectivamente (Figura 3).



Figura 3. Estrutura de populações inferida por abordagem Bayesiana em 249 genótipos de feijão-comum baseada em 23 marcadores SSR, 251 SNP e a combinação de SSR e SNP com $K = 2, 3$ e 4. As amostras foram ordenadas de acordo com o Apêndice 1. Cada grupo é representado por uma cor, cada indivíduo é representado por uma barra vertical. Linhas de duas cores representam genótipos com mistura.

Considerando a análise de diversidade genética entre grupos, os marcadores SSR detectaram menor nível de diversidade no Grupo AND ($He = 0,454$) em comparação com o MES ($He = 0,517$). Tal diversidade foi maior para acessos crioulos em relação aos genótipos comerciais tanto no AND quanto no MES. Os valores do coeficiente de endogamia foram

altos ($f=0,964$ para AND I; $f=0,920$ para MES) e os de H_o foram baixos ($H_o=0,017$ para o AND; $H_o=0,042$ para o MES). Para os SNPs, os índices de He e H_o possuem níveis de valores menores que os SSR, enquanto o f foi elevado, o que evidencia que os marcadores SSR são mais indicados para expressar a diversidade genética entre acessos (Tabela 1).

Tabela 1. Análise descritiva da diversidade genética e divergência entre cultivares comerciais e acessos crioulos dos pool gênicos Andino (AND) e Mesoamericanos (MÊS).

Grupos	<i>N</i>	\bar{A}	<i>NA</i>	<i>Ap</i>	<i>He</i>	<i>Ho</i>	<i>F</i>	<i>PI</i>
SSRs (23)								
AND								
Cultivar	9	60	2.61(0.28)	3	0.41(0.06)	0.00(0.00)	1.00(0.00)	5.3×10^{-11}
Crioulo	48	121	5.26(0.57)	34	0.47(0.06)	0.03(0.01)	0.83(0.06)	9.6×10^{-14}
Total	57	124	5.39(0.62)	37	0.48(0.06)	0.03(0.01)	0.84(0.06)	2.3×10^{-14}
MÊS								
Cultivar	37	103	4.48(0.53)	4	0.46(0.06)	0.01(0.00)	0.97(0.01)	2.5×10^{-17}
Crioulo	155	179	7.78(0.79)	61	0.54(0.06)	0.06(0.01)	0.90(0.02)	5.8×10^{-14}
Total	192	187	8.13(0.80)	65	0.53(0.06)	0.05(0.01)	0.92(0.02)	4.0×10^{-17}
Todos	249	247	60.50(5.67)	-	0.47(0.03)	0.03(0.01)	0.92(0.02)	5.7×10^{-23}
SNP (217)								
AND								
Cultivar	9	259	1.19(0.03)	0	0.06(0.01)	0.01(0.01)	0.87(0.03)	7.1×10^{-12}
Crioulo	48	374	1.71(0.03)	2	0.07(0.01)	0.02(0.01)	0.68(0.03)	7.4×10^{-15}
Total	57	375	1.73(0.03)	2	0.07(0.01)	0.01(0.00)	0.70(0.03)	5.8×10^{-15}
MÊS								
Cultivar	37	358	1.65(0.03)	0	0.13(0.01)	0.01(0.00)	0.97(0.01)	1.5×10^{-25}
Crioulo	155	405	1.87(0.02)	4	0.15(0.01)	0.01(0.00)	0.80(0.02)	2.2×10^{-28}
Total	192	411	1.89(0.02)	4	0.15(0.01)	0.01(0.00)	0.82(0.02)	2.1×10^{-28}
Todos	249	439	1.60(0.02)	-	0.10(0.01)	0.01(0.00)	0.82(0.01)	2.2×10^{-66}

Os 249 genótipos de feijão também foram avaliados quanto à distância genética pela matriz de dissimilaridade de simples correspondência. Para o conjunto de dados de SSR, as distâncias variaram de 0,012 a 0,78 com uma média de 0,47. Para os de SNPs, as distâncias do conjunto de dados variaram de 0,003 a 0,45, com uma média de 0,28.

O teste de Mantel evidenciou uma forte correlação entre as matrizes de Dissimilaridade de Simples Correspondência genética baseadas nos marcadores SSR e SNP, com um valor de Pearson de $r = 0,74$ (valor de $p < 0,01$), portanto, os dados alélicos dos marcadores foram combinados e analisados para entender as relações genéticas na coleção

estudada (Figura 4).

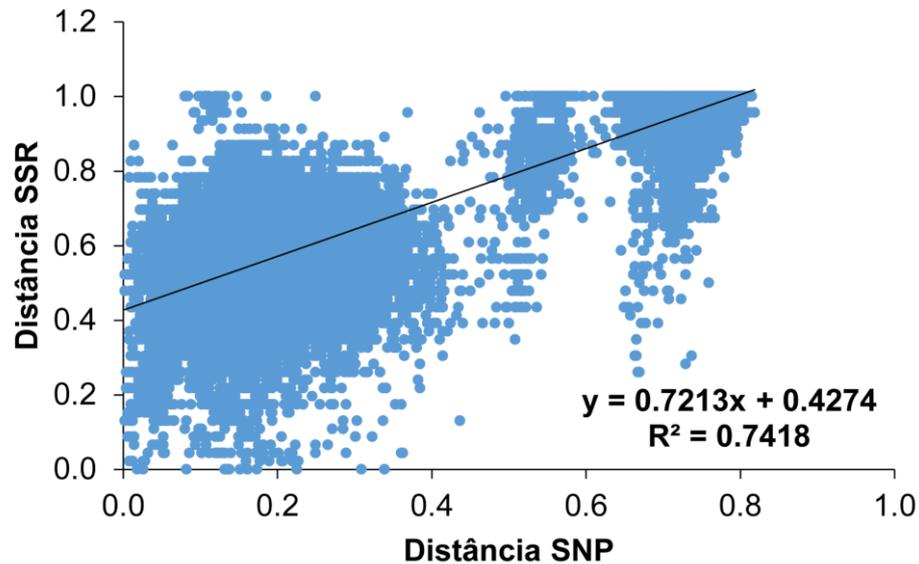


Figura 4. Relação entre os conjuntos de marcadores SNP (eixo y) e SSR (eixo x) calculada usando dissimilaridade de correspondência simples (Mantel $r = 0,7418$). Cada ponto representa uma comparação entre matrizes de dissimilaridade.

As matrizes de distâncias foram utilizadas para a construção de agrupamento pelo método *neighbor joining* (NJ) (Figura 4), no qual se observa a formação de dois grandes grupos principais correspondentes aos Grupo AND e MES identificado previamente pelo software STRUCTURE. O AND (ramificação azul) foi formado por 53 acessos com tamanho de grão grande e médio e dois com grão pequeno. Os tipos comerciais mais comuns foram: bolinha (dois acessos), branco (2), Cranberry (1), Dark Red Kidney (1), jalo (9), preto (5), rajado (8), vermelho grande (8) e vermelho (5). No Grupo MES a maioria dos acessos possuem tamanho pequeno e médio (respectivamente 49, 139) e 6 com tamanho grande. Os tipos comerciais predominantes foram: preto (49 crioulos e 16 comerciais), vermelho (54 crioulo e 1 comercial) e carioca (21 crioulos e 29 comerciais). Além disso, existiam sete feijões designados com o nome vernacular de terrinha (cor marrom) pelos agricultores (Figura 5).

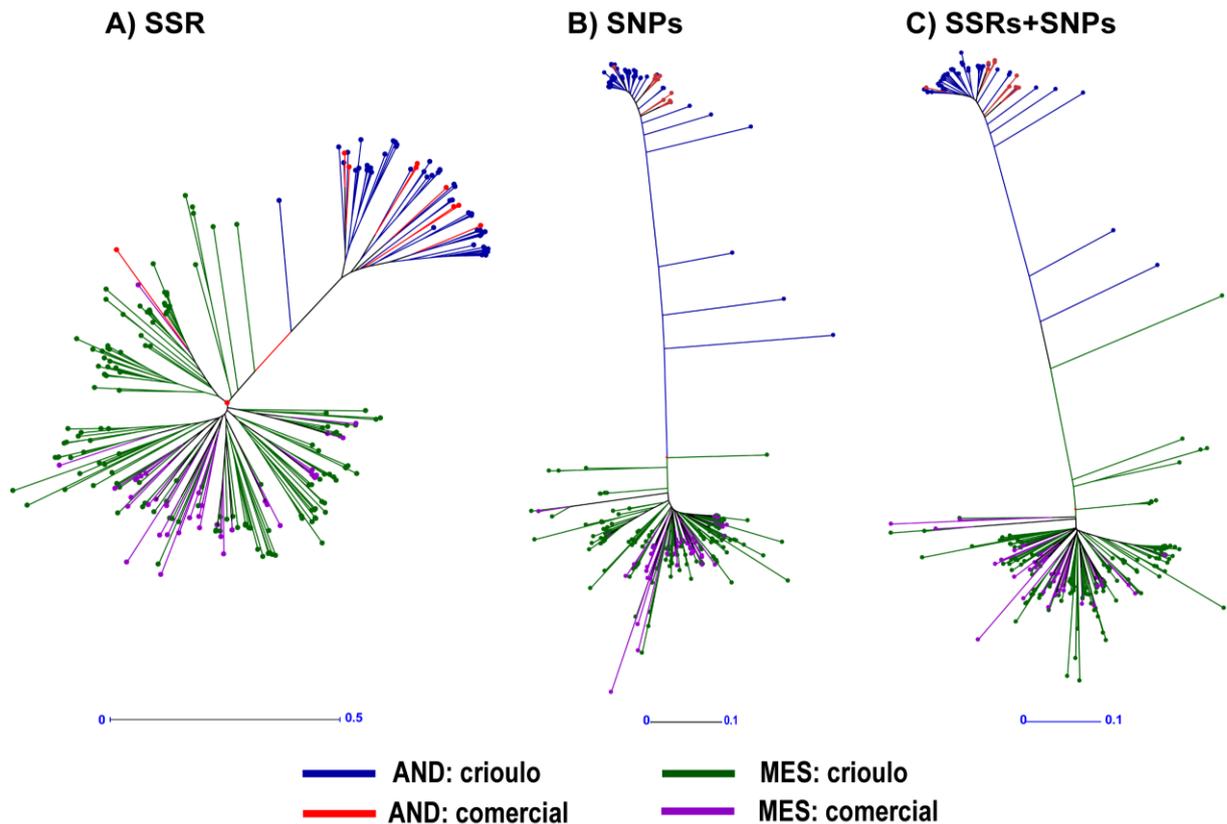


Figura 5. Dendrograma *Neighbor-joining* baseado em uma matriz de dissimilaridade de simples correspondência 250 genótipos representado grupos definidos pelo STRUCTURE em $K=2$ para os seguintes conjuntos de marcadores: A) SSR-di e B) SNPs. O Cluster 1 está representado em vermelho (Landrace) e azul (cultivar/line) e o grupo dois está em verde (landrace) e em roxo (cultivar/linha).

O agrupamento NJ, feito com base nos 23 SSR e 251 SNPs concatenados foi dividido em subgrupos para melhor compreender a organização genotípica dos acessos. O grupo AND foi subdividido em quatro grupos (Grupo I, II, III e IV). O grupo I foi formado pelos acessos mais divergentes, dos quais cinco são comerciais e nove são crioulos. O Grupo II foi constituído por quatro genótipos comerciais e nove acessos crioulos, dos quais seis possuem grãos grandes da cor verde. O grupo III foi formado apenas por feijões crioulos, dentre os quais ficaram alocados os cinco feijões da coloração branco e vermelho, cujos nomes vernaculares foram designados como palhacinho pelos agricultores. O grupo IV foi formado por dois genótipos comerciais e 15 feijões crioulos. Dos acessos crioulos, seis são do tipo comercial jalo, e seis são do tipo vermelho grande escuro. Também ficaram alocados neste grupo dois acessos do tipo bolinha e três rajados (Figura 6, Apêndice 4).

O Grupo MES foi subdividido em 13 grupos (Grupo VI, VII, VIII, IX, X, XI, XII,

XIII, XIV, XV, XVI e XVII). No Grupo VI ficaram alocados os acessos mais divergentes, sendo quatro comerciais e 13 crioulos. O Grupo VI foi formado por 2 cultivares comerciais e 12 crioulos. O grupo VII foi formado por sete acessos dos quais seis são do tipo comercial carioca. O grupo VIII foi formado por três acessos comerciais e oito crioulos. O grupo IX foi formado por sete acessos, dos quais seis são do tipo comercial carioca. O grupo X foi formado por oito acessos, dos quais dois são comerciais e seis crioulos. O grupo XI foi formado por 18 acessos, dos quais 13 são comerciais, sendo quatro do IAPAR, oito da Embrapa e um do IAC. Esse grupo também foi formado por 13 acessos carioca. O grupo XII foi formado por oito acessos (sete são crioulos e um comercial), dos quais seis são vermelho. O grupo XIII foi formado por 11 acessos, dos quais cinco são comerciais (quatro da Embrapa e um do Incaper) e seis crioulos. Além disso, dez feijões são do tipo preto. O grupo XIV foi formado por 17 acessos, dos quais 16 são do tipo preto e quatro são comerciais, sendo dois do IAPAR e dois da Embrapa. O grupo XV foi formado por 15 acessos, dos quais seis são comerciais (quatro da Embrapa e dois do TAA) e nove crioulos. Considerando o tipo, cinco são preto e nove carioca. Grupo XVI foi formado por 16 acessos, dos quais um comercial e 15 crioulos, sendo 13 preto. O XVII foi formado por 41 acessos, dos quais um comercial da UFV. Considerando o tipo, 36 são vermelho (Figura 6, Apêndice 4).

Houve feijões comerciais de diferentes programas de melhoramento que ficaram distribuídos entre os feijões crioulos, ou seja, existe variabilidade nos genótipos elite de feijão analisados, bem como similaridade com os feijões comerciais, que já passaram por programas de melhoramento. A Figura 7 demonstra os principais tipos de feijão, considerando a cor e a morfologia encontrada nos dois, AND e MES.

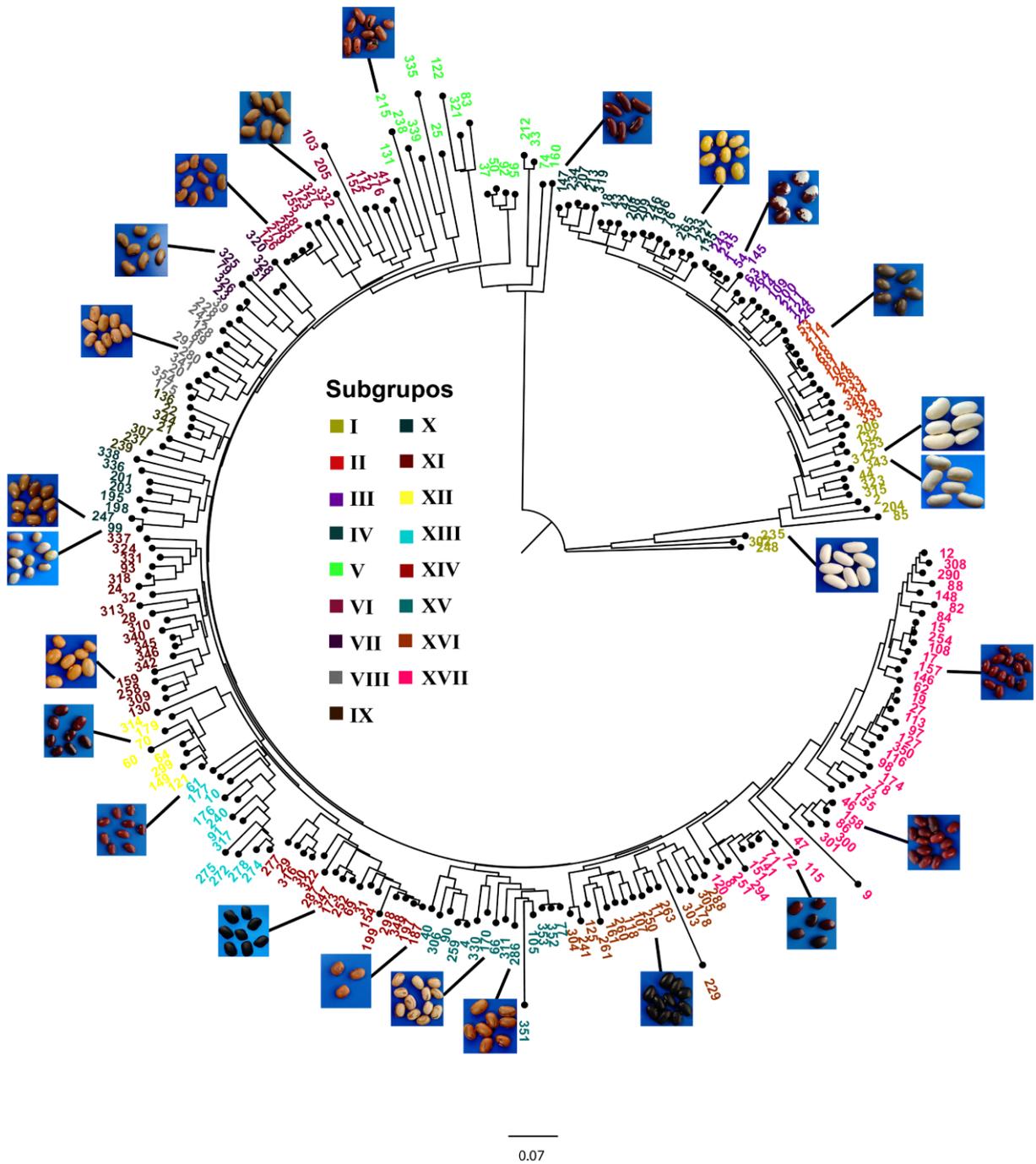


Figura 6. Dendrograma *Neighbor Joining* constituído a partir da Dissimilaridade de Simples Correspondência para 249 genótipos de feijão comum com o conjunto de 217 SNP90 e 23 SSR concatenados. As ramificações foram coloridas de acordo com os subgrupos. Os indivíduos de cada grupo estão no Apêndice 4.

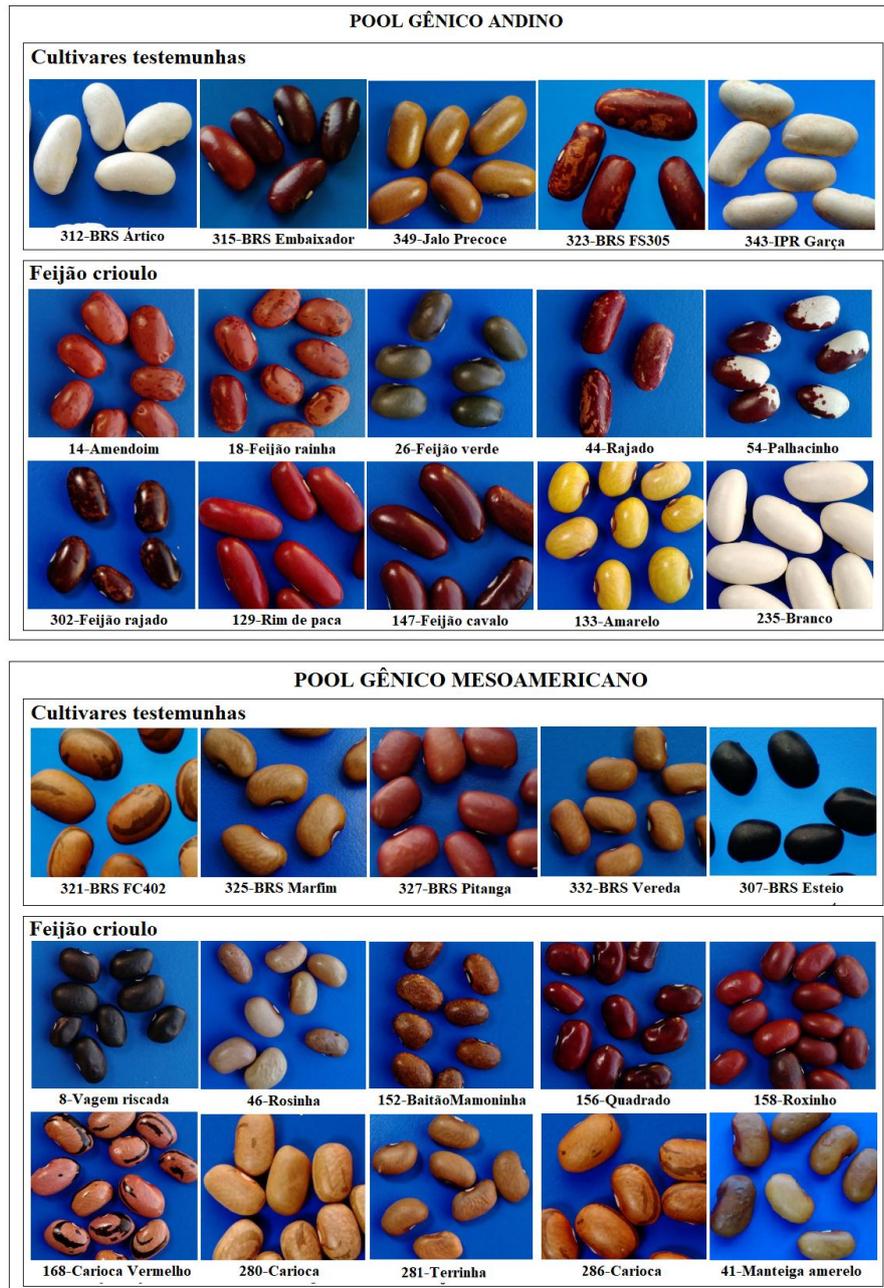
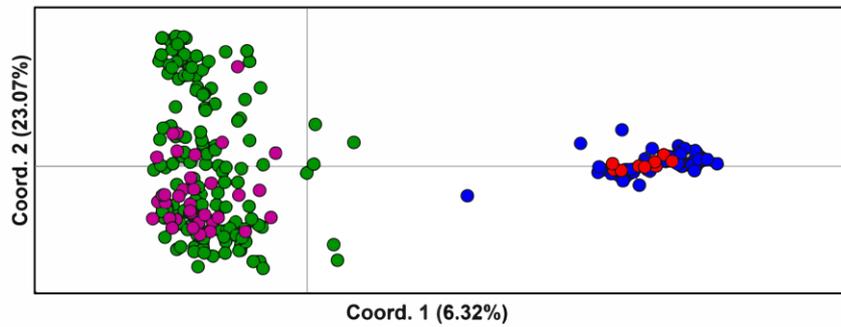


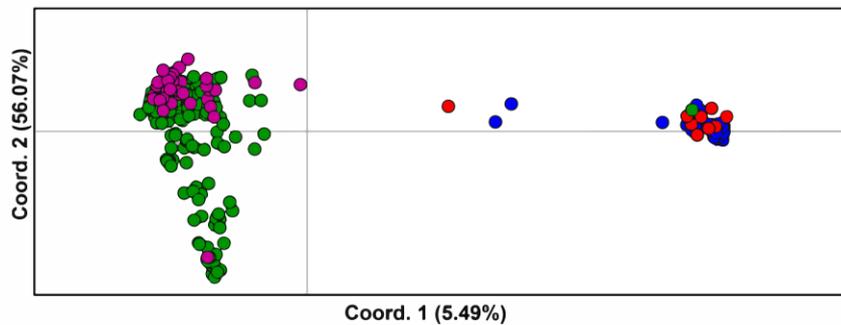
Figura 7. Imagens representativas demonstrando a diversidade de tamanho, forma e cor de sementes disponíveis na coleção de feijão analisada neste estudo.

A análise de coordenadas principais (PCoA) (Figura 8) confirmou os grupo principais descritos na análise do STRUCTURE e no *NJ*. O PCoA com marcadores SSR revelou que existe grande diversidade nos acessos de feijão dentro de cada grupo, mostrando uma maior distribuição dos acessos através dos dois eixos. Os dois primeiros componentes explicaram 35,5% da variação acumulada. Enquanto os SNPs sugeriram que existe grande diferenciação entre os grupos, e os dois primeiros componentes explicaram 75,6% da variação acumulada.

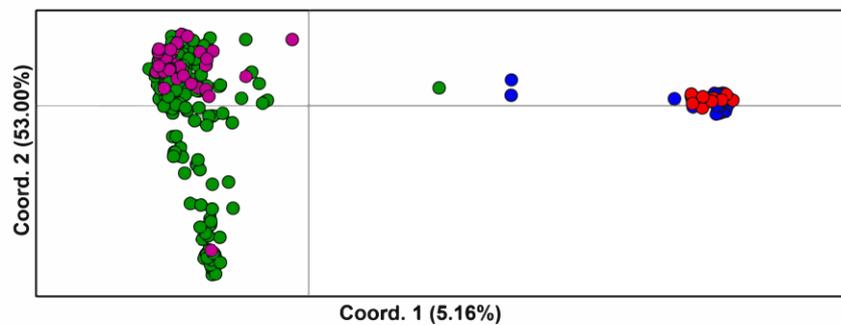
A) SSR



B) SNP



C) SSRs+SNPs



● AND: crioulo ● AND: comercial ● MES: crioulo ● MES: comercial

Figura 8. Análise de coordenadas principais (PCoA) em um conjunto de 249 genótipos de feijão-comum utilizando: a) 251 SNPs, b) 23 SSRs e c) SSRs+SNPs. Nas cores verde (feijões crioulo) e roxo (feijões comerciais) estão os acessos que identificados com o Cluster 1 de acordo com o resultado do software STRUCTURE e nas cores azul (feijões crioulo) e vermelho (feijões comerciais) estão os acessos do Cluster 2.

Os índices de diversidade evidenciaram diferenciação moderada entre os dois grupos para os SSR ($F_{ST}=0.063$). Já os SNPs demonstraram alto nível de diferenciação genética

(FST=0.372). Ambos os marcadores apresentaram alta diferenciação dentro dos grupos (SSR, FIS=0.958; SNPs, FIS=0.937). O FIT foi o mesmo para SSR e SNPs (0,969), o que indicou uma significativa divisão entre os grupos.

A análise de variância molecular (AMOVA) foi conduzida para testar possíveis diferenças entre os grupos definidos no presente trabalho (AND vs. MES) e entre os subgrupos de cada grupo composto por acessos crioulos e comerciais. A AMOVA com SNPs evidenciou que entre os Grupos existiam 63,35% de diversidade, entre acessos 32.11% e dentro acesso 1.02%. No caso dos marcadores SSRs, existem 44% de diversidade entre os grupos AND e MÊS, 51% entre acessos e 4% dentro acessos (Tabela 2).

Tabela 1. Resumo da análise de variância molecular (AMOVA) entre cultivares comerciais e acessos crioulos dos pool gênicos Andino (AND) e Mesoamericanos (MÊS) de feijão-comum.

Fonte de variação	GL	SQ	CV	%	GL	SQ	CV	%
	SNP				SSR			
AND vs MES								
Entre grupos	1	11169,57	63,35	79*	1	878,03	4,93	44*
Dentre grupos	247	7931,89	15,55	19*	247	2952,89	5,73	51*
Entre acessos	249	254,00	1,02	1*	249	124,00	0,50	4*
Total	497	19355,46	79,92	100	497	3954,92	11,15	100
AND: Crioulo vs comercial								
Entre grupos	1	41,75	0,79	8*	1	23,31	0,41	7*
Dentre grupos	55	978,64	8,16	78*	55	602,38	5,32	88*
Entre acessos	57	84,00	1,47	14*	57	18,00	0,32	5*
Total	113	1104,39	10,42	100	113	643,68	6,04	100
MES: Crioulo vs comercial								
Entre grupos	1	125,55	0,75	4*	1	39,30	0,23	3*
Dentre grupos	190	6785,95	17,42	91*	190	2287,90	5,74	88*
Entre acessos	192	170,00	0,89	5*	192	106,00	0,55	8*
Total	383	7081,51	19,05	100	383	2433,21	6,53	100

GL= Grau de liberdade; SQ=Somatório de quadrados; CV=Componente de variância; %=Porcentagem de variação; *= valor de $p < 0,01$ (são as probabilidades de se ter um componente de variância mais extremo que os valores observados apenas por acaso. As probabilidades foram calculadas por 999 permutações aleatórias).

4 DISCUSSÃO

No presente estudo, a análise de uma coleção de trabalho de feijão-comum permitiu obter informações sobre a estrutura e diferenciação genética em feijões crioulos cultivados, coletados no estado do Espírito Santo. Os feijões do estado são resultado de cultivo por pequenos agricultores visando à adaptação às condições climáticas e restrições ambientais das diferentes regiões de colheita, bem como qualidade organoléptica de acordo com o mercado (INCAPER, 2016).

Para entender a diversidade genética na coleção de trabalho, as estatísticas genéticas foram realizadas com um subconjunto de 217 SNPs polimórficos selecionados com base no polimorfismo do BeadChips BARCBean6K_2, desenvolvido por Song et al. (2015), e por 23 marcadores SSR padronizados em multiplex por Valdisser et al. (2013). Geralmente, os SNPs são bialélicos e possuem o valor máximo de PIC de 0,50. No presente estudo os SNPs evidenciaram em média 2 alelos por *loci* e o valor de PIC médio 0,28, sendo este valor considerado moderado, o que indica haver polimorfismo e diversidade genética nos materiais estudados. Também revela que a coleção aqui estudada é bastante diversa, representando diversos tipos comerciais e crioulos de feijão-comum.

Os marcadores SSR são multialélicos, e neste trabalho revelaram valores médios de 11,83 alelos por *loci* e valor médio de PIC de 0,65. Os números de alelos relatados e os valores de PIC para os marcadores são similares a vários estudos de diversidade empregados em germoplasma de feijão (BURLE et al., 2010, MULLER et al., 2015; VALDISSIER et al., 2016, 2017).

As análises, por ambos os marcadores, com base no STRUCTURE, coordenadas principais e *neighbor-joining*, revelaram os dois grandes grupos amostrados com pouca evidência de introgressão. Os grandes grupos formados, caracterizados por testemunhas sabidamente conhecidas como genótipos andinos e mesoamericanos, sugerem que os acessos cultivados no estado do Espírito Santo representam reservatórios gênicos provenientes de ambos os eventos de domesticação, com maior representação do mesoamericano, como ocorre em todo o país. Essa coexistência de genótipos andinos e mesoamericanos foi observada em outros estudo por diferentes ferramentas (GEPTS et al. 1986; GEPTS 1988; KWAK; GEPTS 2009), das quais os marcadores SSR e SNP têm demonstrado bons resultados em amostras de germoplasma brasileiro (BURLE et al., 2010; BLAIR et al., 2013; MULLER et al., 2015). A maioria dos acessos (73,68%) pertence ao grupo mesoamericano. Isso é consistente com o

predomínio do pool genético mesoamericano nas variedades e cultivares brasileiras (BURLE et al., 2010; BLAIR et al., 2013 e CARDOSO et al., 2014).

A morfologia das sementes que prevaleceu nos genótipos do grupo andino foi com grãos médios e grandes, enquanto no mesoamericano foi com grãos médios e pequenos. Em relação à distribuição dos tipos de grãos e as cores do tegumento (Tabela 2), a maior diversidade foi encontrada no grupo andino, com sementes de cor preta (grande), vermelha (grande), jalo, branca, rajada, verde, entre outros. No grupo mesoamericano, a maioria das sementes foi do tipo carioca, preto, vermelho e marrom. As diferenças de tipo e cor de sementes foram semelhantes ao descrito no trabalho de Blair et al. (2013) e Cardoso et al. (2014), que também mostraram maior diversidade de morfologia nas sementes no grupo andino.

Uma variedade de tipos de grãos comerciais é cultivada no Brasil, dependendo das preferências regionais, sendo os mais comuns os tipos de sementes pequenas, característico do pool gênico mesoamericano. Um exemplo de tipo comercial de feijão característico do Brasil é o feijão Carioca que representa 70% do mercado consumidor, e é caracterizado por grãos com listras pretas em um fundo creme claro (PELOSO; MELO, 2005). Este tipo comercial se espalhou para todas as regiões brasileiras, descaindo o consumo de sementes pequenas de feijão Preto, que anteriormente era o tipo de feijão mais tradicional e amplamente cultivado no Brasil (BENIN et al., 2002). A maioria dos acessos coletados no Espírito Santo foi de sementes pequenas e médias com tegumento de cor vermelha, seguido pelo preto e carioca.

Algumas classes de sementes do pool gênico Andino são encontradas no Brasil, mas são de produção limitada. Estes incluem o feijão vermelho grande, Jalo, Branco, DRK (*Dark Red Kidney*), Cranberry, Calima e Rajado, que são alternativas para atender principalmente o mercado de exportações (PEREIRA et al., 2010).

A diversidade alélica dos SSRs, considerando os grupos, foi informativa, pois identificaram 172 alelos e 57 alelos privados no pool gênico andino. Também foram identificados 217 alelos e 102 alelos privados no mesoamericano. As estimativas de número alélico e alelos privado nos acessos crioulos foram maiores que nos comerciais. Estimativas de diversidade alélica superiores no germoplasma crioulo em relação ao comercial também foram relatadas por outros autores (MULLER et al., 2015; VALDISSER et al., 2016, 2017). Esses resultados evidenciam a necessidade de conservação dessa biodiversidade. Ao longo de sua existência, esses acessos desenvolveram mecanismos de adaptação às condições de estresse biótico e abiótico, características que podem ser amplamente utilizadas em programas de pesquisa.

As amostras analisadas tiveram H_o média de 0,04, apesar da espécie ser predominantemente autógama (RAMALHO; ABREU, 2006). Esta heterozigosidade foi 0,006 menor nos cultivares em relação aos acessos crioulos (0,046). A maior H_o observada nos acessos crioulos pode ser um reflexo da diversidade genética dos acessos locais. No mercado nacional existe uma preferência para semente do tipo comercial carioca e preto (PELOSO; MELO, 2005). Em contrapartida, na agricultura familiar com produção principal para subsistência ou para mercados locais, pode ser cultivada uma ampla variedade de cores e tamanhos de sementes. O hábito de cultivar sementes com características distintas é um meio de aumentar a estabilidade e manter o potencial evolutivo, bem como lidar com as mudanças climáticas (CECCARELLI et al., 2014). O cultivo de tipos diferentes de sementes pode desempenhar um papel importante na supressão de ervas daninhas e evitar que patógenos e pragas de insetos se estabeleçam. A produção de tipos variados de sementes também pode ajudar na comercialização entre os consumidores, que podem preferir um tipo peculiar de semente.

Neste estudo, a H_e do pool genético mesoamericano foi ligeiramente maior que o do andino, em contraste com os resultados obtidos por Blair et al. (2006) e de acordo com o encontrado por Muller et al. (2015). Essas estimativas maiores podem ser consequência do maior número de acessos mesoamericanos caracterizados (~ 3x mais acessos). Entretanto, independentemente do tamanho da amostra ou do tipo de marcador utilizado, maior H_e também foi relatada no germoplasma mesoamericano em outros trabalhos (KWAK; GEPTS 2009; MAMIDI et al., 2011; BITOCCHI et al., 2013).

Eventos históricos globais de domesticação na evolução do feijoeiro possibilitaram uma maior diversidade no pool gênico mesoamericano (SCHMUTZ et al., 2014; BITOCCHI et al., 2012; MAMIDI et al., 2013). A menor diversidade encontrada no germoplasma andino é esperada, devido à prevalência de introdução e domesticação mesoamericana no Brasil (BURLE et al., 2010; CARDOZO et al., 2014). Para as estimativas de diversidade genética, considerando apenas as raças crioulas, valores próximos foram obtidos separadamente para os pools gênicos ($H_e = 0,519$ no Andino e $H_e = 0,516$ no Mesoamericano). Burle et al. (2010) também identificaram valores próximos de diversidade genética entre os grupos mesoamericano (0,33, $TA=221$) e andino (0,30, $TA=58$), estudando genótipos crioulos brasileiro.

Os SSR apresentaram uma diferenciação moderada entre os pools gênico, mesoamericano e andino ($F_{ST} = 0,449$), apoiando a diferenciação entre eles. Os dois pool gênicos originaram-se de um ancestral comum há ~111.000 anos, seguindo caminhos

evolutivos separados e sujeitos a efeitos de estrangulamento distintos antes da domesticação (MAMIDI et al., 2013). Mais tarde, durante o processo de domesticação, a população andina foi submetida a um gargalo equivalente a 26% do tamanho efetivo, enquanto na população mesoamericana esse gargalo foi de 46%. Juntos, esses fatores contribuíram para uma redução da diversidade genética e um aumento na estruturação dos pools gênicos. Considerando as variedades crioulas e as comerciais, dentro de cada pool gênico, a diferenciação foi de moderada a pouca ($F_{ST}=0,054$ no andino; $F_{ST}=0,033$ no mesoamericano). Essa diferenciação foi menor que a observada por Muller et al. (2015), que encontraram diferenciação genética moderada, de $F_{ST}=0,085$. A estruturação dos genótipos de feijoeiro nos pools gênico também foi demonstrada por AMOVA (42,645 %). Muller et al. (2015), por meio de uma AMOVA, detectou 36,5% de diferenciação de acesso, com base na origem andina e mesoamericana.

5 CONCLUSÃO

Este estudo fornece uma visão da diversidade e estrutura em uma coleção geograficamente representativa de variedades crioulas e comerciais cultivadas no estado do Espírito Santo. As análises dos genótipos crioulo em comparação com os comerciais revelou a existência de maior diversidade no extrato crioulo. Os dois maiores reservatórios gênicos de feijão (andino e mesoamericano) são cultivados no estado. No entanto, o pool gênico mesoamericano representa a maioria das variedades, que por sua vez apresentou maior diversidade alélica. O pool gênico andino, mesmo sendo pouco representativo na região, demonstrou maior diversidade morfológica considerando a cor do grão. A utilidade relativa de SSRs e SNPs vai depender das especificidades de cada estudo particular. Ambos os sistemas de marcadores são eficientes para a avaliação da diversidade genética e estrutura populacional, entretanto, os marcadores SSR foram melhores para detectar a diversidade entre acessos e os SNPs permitiram maior discriminação interpool gênico. Em conjunto, os SSR e SNPs oferecem uma oportunidade para discriminar com precisão entre os pools gênicos e entre os acessos de feijões. O alto nível de diversidade genética nas variedades crioulas e comerciais torna a coleção estudada uma fonte valiosa que deve ser preservada, priorizada e explorada em programas de melhoramento. A agricultura familiar é uma estratégia importante para manter a diversidade de amostras crioulas.

REFERÊNCIAS

AKIBODE, S.; MAREDIA, M. K. Global and regional trends in production, trade and

consumption of food legume crops. Department of Agricultural, Food and Resource Economics, Michigan State University, 2011. 83 pp.

BEEBE, S. Common bean breeding in the tropics. **Plant Breeding Reviews**, 2012, p. 357-426.

BENIN, G. et al. Identificação da dissimilaridade genética entre genótipos de feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.) do grupo preto. **Current Agricultural Science and Technology**, v. 8, n. 3, 2002.

BENNETT, MICHAEL D.; SMITH, J. B. Nuclear DNA amounts in angiosperms. **Philosophical Transactions of the Royal Society**, v. 274, n. 933, p. 227-274, 1976.

BITOCCHI, E. et al. Mesoamerican origin of the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) is revealed by sequence data. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 109, n. 14, p. 788-796, 2012.

BITOCCHI, E. et al. Molecular analysis of the parallel domestication of the common bean (*Phaseolus vulgaris*) in Mesoamerica and the Andes. **New Phytologist**, v. 197, n. 1, p. 300-313, 2013.

BLAIR, M. W. et al. Diversity and population structure of common bean from Brazil. **Crop Science**, v. 53, n. 5, p. 1983-1993, 2013.

BLAIR, M. W.; IRIARTE, G.; BEEBE, S. QTL analysis of yield traits in an advanced backcross population derived from a cultivated Andean × wild common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cross. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 112, n. 6, p. 1149-1163, 2006.

BURLE, M. L. et al. Microsatellite diversity and genetic structure among common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) landraces in Brazil, a secondary center of diversity. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 121, n. 5, p. 801-813, 2010.

CARDOSO, P. C. B. et al. Discrimination of common bean cultivars using multiplexed microsatellite markers. **Genetics and molecular research**, v. 13, n. 1, p. 1964-1978, 2014.

CASTRO-ROSAS, J. et al. Effect of harvest year on the physical properties, chemical composition and cooking time of three common bean varieties that are grown in Mexico. **Quality Assurance and Safety of Crops & Foods**, v. 8, n. 3, p. 339-348, 2016.

CECCARELLI S. Drought. In: JACKSON, M.; FORD-LLOYD, B.; PARRY, M. (Eds.). Plantgenetic resources and climate change. Wallingford, UK: CAB International, 2014. p. 221–235.

CORTÉS, A. J. et al. SNP marker diversity in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Theoretical and applied genetics**, v. 123, n. 5, p. 827, 2011.

DEL PELOSO, M.J.; MELO, L.C. Potencial de rendimento da cultura do feijoeiro comum. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2005. 131p.

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

EARL, D. A.; VONHOLDTA, B. M. Website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. **Conservation genetics resources**, v. 4, n. 2, p. 359-361, 2012.

- EMYGDIO, B. M. et al. Diversidade genética em cultivares locais e comerciais de feijão baseada em marcadores RAPD. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 38, n. 10, p. 1165-1171, 2003.
- EVANNO, G.; REGNAUT, S.; GOUDET, J. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. **Molecular ecology**, v. 14, n. 8, p. 2611-2620, 2005.
- EXCOFFIER, L.; HECKEL. Computer programs for population genetics data analysis: a survival guide. **Nature**, v. 7, p. 745-758, 2006.
- FAO. Faostat. Crops. (2017). Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>>. Acesso em: fev. 2019.
- GEPTS, P. A middle American and an Andean common bean pool. In: Gepts, P. (Eds.) Genetic resources of *Phaseolus* beans, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Netherlands, 1988. p. 375–390.
- GEPTS, P. et al. Phaseolin-protein variability in wild forms and landraces of the common bean (*Phaseolus vulgaris*): evidence for multiple centers of domestication. **Economic botany**, v. 40, n. 4, p. 451-468, 1986.
- GOUDET, J. (2001). FSTAT, a program to estimate and test gene diversities and fixation indices (version 2.9. 3). <<http://www2.unil.ch/popgen/softwares/fstat.Htm>> Acesso em março. 2018.
- INCAPER, 2016. Ações do Estado para a agricultura familiar é tema de reunião na Sede do Incaper. Dispon[ível em:< <https://incaper.es.gov.br/Not%C3%ADcia/acoes-do-estado-para-a-agricultura-familiar-e-tema-de-reuniao-na-sede-do-incaper>>. Acesso em: mar. 2018.
- JAKOBSSON, M.; ROSENBERG, N. A. CLUMPP: a cluster matching and permutation program for dealing with label switching and multimodality in analysis of population structure. **Bioinformatics**, v. 23, n. 14, p. 1801-1806, 2007.
- KWAK, M.; GEPTS, P. Structure of genetic diversity in the two major gene pools of common bean (*Phaseolus vulgaris* L., Fabaceae). **Theoretical and Applied Genetics**, v. 118, n. 5, p. 979-992, 2009.
- MACIEL, F. L. et al. Genetic relationships and diversity among Brazilian cultivars and landraces of common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) revealed by AFLP markers. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 50, n. 8, p. 887-893, 2003.
- MAMIDI, S. et al. Demographic factors shaped diversity in the two gene pools of wild common bean *Phaseolus vulgaris* L. **Heredity**, v. 110, n. 3, p. 267, 2013.
- MAMIDI, S. et al. Investigation of the domestication of common bean (*Phaseolus vulgaris*) using multilocus sequence data. **Functional Plant Biology**, v. 38, n. 12, p. 953-967, 2011.
- MAMMADOV, J. et al. SNP markers and their impact on plant breeding. **International journal of plant genomics**, v. 2012.
- MÜLLER, B. S. F. et al. An operational SNP panel integrated to SSR marker for the assessment of genetic diversity and population structure of the common bean. **Plant molecular biology reporter**, v. 33, n. 6, p. 1697-1711, 2015.
- PEAKALL R.; SMOUSE, P. E. GenAIEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research - an update. **Bioinformatics**, v. 28, p. 2537-2539, 2012.

- PEAKALL R.; SMOUSE, P. E. GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research - an update. **Bioinformatics**, v. 28, p. 2537-2539, 2012.
- PEREIRA, H. S. et al. Evaluation of export common bean genotypes in Brazil. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, v. 53, p. 276-277, 2010.
- PERRIER, X.; JACQUEMOUD-COLLET, J. P. (2006) Darwin software. Disponível em: <<http://darwin.cirad.fr/darwin>> Acesso em: mar. 2018.
- PERSEGUINI, J. M. K. C. et al. Genome-Wide Association Studies of Anthracnose and Angular Leaf Spot Resistance in Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **PLoS ONE**, v. 11, n. 3, 2016.
- PRITCHARD, J. K.; STEPHENS, M.; DONNELLY, P. Inference of population structure using multilocus genotype data. **Genetics**, v. 155, p. 945–959, 2000.
- RAMALHO, M.A.P.; ABREU, A.F.B. Cultivares. In: VIEIRA, C.; PAULA JUNIOR, T.J.; BORÉM, A. (Eds.). Feijão: aspectos gerais e cultura no Estado de Minas. Viçosa: UFV, 1998. p.435-449.
- ROSENBERG, N. A. DISTRUCT: a program for the graphical display of population structure. **Molecular Ecology Notes**, v. 4, n. 1, p. 137-138, 2004.
- SANTIAGO-RAMOS, D. et al. Physicochemical properties of nixtamalized black bean (*Phaseolus vulgaris* L.) flours. **Food chemistry**, v. 240, p. 456-462, 2018.
- SCHMUTZ, J. et al. A reference genome for common bean and genome-wide analysis of dual domestications. **Nature genetics**, v. 46, n. 7, p. 707, 2014.
- SILVA, O. F.; WANDER, A. E. O feijão-comum no Brasil passado, presente e futuro. Santo Antônio de Goiás, Embrapa Arroz e Feijão. Documentos 287, ISSN 1678–9644; 287, 63 p, 2013.
- SONG, Q. et al. SNP assay development for linkage map construction, anchoring whole-genome sequence, and other genetic and genomic applications in common bean. **G3: Genes, Genomes, Genetics**, v. 5, n. 11, p. 2285-2290, 2015.
- VALDISSER, P. A. M. R et al. SNP discovery in common bean by restriction-associated DNA (RAD) sequencing for genetic diversity and population structure analysis. **Molecular genetics and genomics**, v. 291, n. 3, p. 1277-1291, 2016.
- VALDISSER, P. A. M. R. et al. In-depth genome characterization of a Brazilian common bean core collection using DArTseq high-density SNP genotyping. **BMC genomics**, v. 18, n. 1, p. 423, 2017.
- VALDISSER, P. A. M. R. et al. Protocolo de extração de DNA e genotipagem de SSRs em larga escala para uso no melhoramento do feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.). Editora Embrapa, Santo Antônio de Goiás, 6p. (Comunicado Técnico, 208), 2013.
- WEIR, B. S.; COCKERHAM, C. C. Estimating F-Statistics for the analysis of population structure. **Evolution**, v.38, p.1358–1370, 1984.
- WRIGHT, S. The genetical structure of populations. **Annual Eugenics**. v. 15, p. 223- 354, 1951.

APÊNDICE

Apêndice 1. Informação das análises de caracterização molecular de marcadores SSR e SNPs dos 265 acessos de feijão comuns utilizados

Nome (identificação numérica)	Local de colheita	Cultivar/ Comercial	Cor	Tamanho do grão
Palhacinho (1)	Vila Velha	Crioulo	Cores	Médio
Manteiga bege claro (3)	Vitória	Crioulo	Jalo	Grande
Amendoim (14)	Guaçuí	Crioulo	Rajado	Grande
Feijão rainha (18)	Ubá	Crioulo	Rajado	Grande
Amendoim (42)	-	Crioulo	Cores	Médio
Amendoim (43)	Guaçuí	Crioulo	Rajado	Grande
Bolinha (63)	-	Crioulo	Vermelho	Médio
Manteigão (76)	-	Crioulo	Jalo	Grande
Preto Gigante (124)	Domingos Martins	Crioulo	Preto	Grande
Rim de Paca (129)	Guaçuí	Crioulo	Vermelho escuro grande	Grande
Amarelo (133)	Santa Tereza	Crioulo	Bolinha	Médio
Palhacinho (145)	-	Crioulo	Cores	Médio
Feijão Cavalo (147)	-	Crioulo	Vermelho escuro grande	Grande
Amendoim (171)	Adésio	Crioulo	Rajado	Grande
Amendoim (207)	Alegre	Crioulo	Rim de paca	Grande
Vermelho (208)	Alegre	Crioulo	Vermelho	Pequeno
Vermelho (213)	Alegre	Crioulo	Vermelho	Grande
Bolinha amarela (227)	Curitiba	Crioulo	Bolinha	Médio
Cavalo espanhol (234)	Curitiba	Crioulo	Vermelho	Grande
Palhacinho (243)	Linhares	Crioulo	Cores	Médio
Palhacinho (245)	Domingos Martins	Crioulo	Cores	Médio
Feijão Manteigão (246)	Domingos Martins	Crioulo	Jalo	Médio
Vermelho (249)	Linhares	Crioulo	Vermelho	Médio
Manteigão (265)	Colatina	Crioulo	Vermelho	Grande
BRS Embaixador (315)	-	Cultivar Embrapa	Dark Red Kidney	Grande
BRS Executivo (319)	-	Cultivar Embrapa	Cranberry	Grande
BRS Radiante (329)	-	Cultivar Embrapa	Rajado	Grande
Verde (53)	Domingos Martins	Crioulo	Cores	Grande
Carioca Mamoninho (85)	-	Crioulo	Vermelho	Média
Verde (109)	Guaçuí	Crioulo	Cores	Grande
Verde (114)	-	Crioulo	Cores	Grande
Corujinha (204)	Alegre	Crioulo	Rajado	Grande
Vermelho (209)	Alegre	Crioulo	Vermelho	Pequeno
Carnaval (226)	Curitiba	Crioulo	Cores	Grande
Vermelho Rondonia (264)	Colatina	Crioulo	Vermelho	Média
BRSMG Realce (333)	-	Cultivar Embrapa	Rajado	Grande
BRSMG União (334)	-	Cultivar Embrapa	Jalo	Grande
Manteiga vermelho (2)	Vila Velha	Crioulo	Vermelho	Grande
Botina (48)	Alegre	Crioulo	Preto	Grande
Palhacinho (54)	-	Crioulo	Cores	Média
Verde (68)	-	Crioulo	Cores	Grande
Verde (111)	Santa Angélica	Crioulo	Cores	Grande
Vermelho (132)	Santa Tereza	Crioulo	Vermelho	Grande
Mulato Manteigão (206)	Alegre	Crioulo	Jalo	Grande
Preto (214)	Alegre	Crioulo	Preto	Média

Continuação...

Jalo (233)	Curitiba	Crioulo	Jalo	Médio
BRS FS05 (323)	-	Cultivar Embrapa	Calima	Grande
Feijão Verde (26)	Alegre	Crioulo	Cores	Médio
Boreal (44)	incaper	Crioulo	Rajado	Grande
Preto (104)	Domingos Martins	Crioulo	Preto	Média
Jalo Precoce (349)	-	Cultivar Embrapa	Jalo	Média
Preto (200)	Alegre	Crioulo	Preto	Médio
Preto Brilhoso (211)	Manhumirim	Crioulo	Preto	Médio
Vermelho (253)	Vitória: Aldeia Irajá	Crioulo	Vermelho	Grande
Manteigão (196)	Alegre	Crioulo	Jalo	Grande
Verde Cristo Rei (81)	-	Crioulo	Cores	Grande
Branco (5)	Vitória	Crioulo	Branco	Grande
BRS Ártico (312)	-	Cultivar Embrapa	Branco	Grande
IPR Garça (343)	-	Cultivar Iapara	Branco	Grande
Bege (135)	Santa Tereza	Crioulo	Jalo	Grande
Rajado (268)	Alegre	Crioulo	Rajado	Grande
Cavalo (223)	Curitiba	Crioulo	Jalo	Grande
Branco (235)	Curitiba	Crioulo	Branco	Grande
Feijão rajado (302)	-	Crioulo	Rajado	Média
Bico de Ouro (115)	Roseira	Crioulo	Vermelho	Médio
Bico de ouro (12)	Muniz Freire	Crioulo	Vermelho	Médio
Vermelho (17)	Cachoeiro	Crioulo	Vermelho	Médio
Vermelho (19)	Iúna	Crioulo	Vermelho	Médio
Carioca (27)	Alegre	Crioulo	Vermelho	Pequeno
Vermelho (113)	Santa Angélica	Crioulo	Vermelho	Médio
Bico de Ouro (120)	Guaçuí	Crioulo	Vermelho	Médio
Vermelho (142)	-	Crioulo	Vermelho	Médio
Vermelho (148)	-	Crioulo	Vermelho	Pequeno
Vermelho Tradicional (157)	-	Crioulo	Vermelho	Pequeno
Vagem Riscada (172)	Adésio	Crioulo	Preto	Médio
Vermelho Serafino (290)	-	Crioulo	Vermelho	Pequeno
Feijão vermelho (294)	-	Crioulo	Vermelho	Pequeno
Feijão roxinho (300)	-	Crioulo	Vermelho	Pequeno
Vermelho (308)	Alfredo Chaves	Crioulo	Vermelho	Média
Mata-mulher (15)	Muniz Freire	Crioulo	Vermelho	Pequeno
Roxinho (61)	-	Crioulo	Vermelho	Pequeno
Feijão (72)	-	Crioulo	Vermelho	Pequeno
Vermelho (127)	Domingos Martins	Crioulo	Vermelho	Médio
Roxinho (158)	-	Crioulo	Vermelho	Pequeno
Vermelho (82)	-	Crioulo	Vermelho	Pequeno
Vermelho (108)	Domingos Martins	Crioulo	Vermelho	Média
Vermelho (116)	Venda Nova	Crioulo	Vermelho	Médio
Vermelho Ouro (141)	-	Crioulo	Vermelho	Pequeno
Vermelho (146)	-	Crioulo	Vermelho	Médio
Vermelho (86)	-	Crioulo	Vermelho	Média
Porto Alegre (254)	Alfredo Chaves	Crioulo	Vermelho	Médio
Vermelho (9)	Celina	Crioulo	Vermelho	Pequeno
Vermelho (84)	-	Crioulo	Vermelho	Média
Vermelhinho (62)	-	Crioulo	Vermelho	Pequeno
Feijão (71)	-	Crioulo	Cores	Pequeno
Vermelho (78)	-	Crioulo	Vermelho	Pequeno

Continuação...

Vermelho (83)	-	Crioulo	Vermelho	Pequena
Vermelho Antigo (155)	-	Crioulo	Vermelho	Pequeno
Vage Riscado (97)	Guaçuí	Crioulo	Preto	Média
Vermelho (73)	-	Crioulo	Vermelho	Pequeno
Feijão Pioneiro (151)	-	Crioulo	Vermelho	Pequeno
Ouro Vermelho (350)	-	Cultivar UFV	Vermelho	Média
Feijão roxinho (301)	-	Crioulo	Vermelho	Pequena
Nego Doido (37)	Roseira	Crioulo	Preto	Médio
Preto (118)	Venda Nova	Crioulo	Preto	Médio
Preto (31)	Alegre	Crioulo	Preto	Médio
Preto (50)	Alegre	Crioulo	Preto	Média
Bico de Ouro (88)	Alegre	Crioulo	Vermelho	Pequena
Amendoim Preto (40)	Guiçuí	Crioulo	Preto	Médio
Bico de Ouro (47)	Alegre	Crioulo	Vermelho	Pequeno
Carioca Riscado (215)	Guaçuí	Crioulo	Carioca	Média
Isaías (46)	Guaçuí	Crioulo	Vermelho	Pequeno
Vagem Riscada (92)	Alegre	Crioulo	Preto	Media
Preto (4)	Vitória	Crioulo	Preto	Médio
Preto (259)	Colatina	Crioulo	Preto	Pequeno
Xamego (239)	-	Cultivar Incaper	Preto	Médio
CNFP 15310 (90)	-	Cultivar Embrapa	Preto	Pequena
Quadrado (156)	-	Crioulo	Vermelho	Pequeno
Feijão vermelho escuro (299)	-	Crioulo	Vermelho	Pequeno
Preto (49)	Roseira	Crioulo	Preto	Médio
Carioca (105)	Domingos Martins	Crioulo	Carioca	Média
Vinho (121)	Irupi	Crioulo	Vermelho	Médio
Paina (275)	Iúna	Crioulo	Preto	Média
Bola Cheia (77)	-	Crioulo	Carioca	Médio
Manteigão vermelho (252)	Vitória	Crioulo	Preto	Pequeno
TAA Dama (353)	-	Cultivar TAA	Carioca	Média
Carioca (22)	-	Crioulo	Carioca	Médio
Preto 90 dias (199)	Alegre	Crioulo	Preto	Médio
Vagem Branca (272)	Iúna	Crioulo	Preto	Média
Feijão Preto (298)	Afonso Cláudio	Crioulo	Preto	Média
IPR 139 (340)	-	Cultivar Iapar	Carioca	Média
IPR Tuiuiu (347)	-	Cultivar Iapar	Preto	Média
Pérola (351)	-	Cultivar Embrapa	Carioca	Média
TAA Bola Cheia (352)	-	Cultivar TAA	Carioca	Média
Preto (30)	-	Crioulo	Preto	Média
Paina (274)	Iúna	Crioulo	Preto	Média
Preto (173)	Matheus Alegre	Crioulo	Preto	Médio
Mulatinho (197)	Alegre	Crioulo	Mulatinho	Médio
BRS FC402 (321)	-	Cultivar Embrapa	Carioca	Média
Terrinha (187)	Alegre	Crioulo	Cores	Pequeno
Vermelho Escuro (64)	-	Crioulo	Vermelho	Pequeno
IPR Campos Gerais (342)	-	Cultivar Iapar	Carioca	Média
IPR Uirapuru (348)	-	Cultivar Iapar	Preto	Média
Preto (89)	-	Crioulo	Preto	Médio
CNFP 15302 (177)	-	Cultivar Embrapa	Preto	Médio
feijão 115 (288)	-	Crioulo	Preto	Média
Caetezinho (250)	Vitória	Crioulo	Preto	Médio
feijão 113 (287)	-	Crioulo	Preto	Pequeno
Feijão Caetezinho (263)	Colatina	Crioulo	Preto	Pequena
BRS FC403 (322)	-	Cultivar Embrapa	Preto	Médio

Continuação...

Rio Tibagi (240)	-	Cultivar Incaper	Preto	Pequeno
Preto (29)	-	Crioulo	Preto	Médio
Feijão (149)	-	Crioulo	Vermelho	Médio
Biodinâmica (66)	-	Crioulo	Carioca	Médio
IPR Tangará (346)	-	Cultivar Iapar	Carioca	Média
BRS Ametista (311)	-	Cultivar Embrapa	Carioca	Média
Porto Real (306)	Alfredo Chaves	Crioulo	Preto	Pequena
BRS Agreste (310)	-	Cultivar Embrapa	Mulatinho	Média
Serrano (176)	-	Cultivar Embrapa	Preto	Médio
Vagem preta (303)	-	Crioulo	Preto	Média
feijão (276)	Iúna	Crioulo	Preto	Média
BRS Esplendor (316)	-	Cultivar Embrapa	Preto	Média
IPR Juriti (345)	-	Cultivar Iapar	Carioca	Médio
Manteiga Amerelo (41)	Guaçuí	Crioulo	Jalo	Médio
Vagem riscada (10)	Muniz Freire	Crioulo	Preto	Médio
Vagem Branca (278)	Iúna	Crioulo	Preto	Média
Feijão (60)	incaper	Crioulo	Vermelho	Média
Vermelho (70)	-	Crioulo	Vermelho	Pequeno
CNFP 15290 (91)	-	Cultivar Embrapa	Preto	Média
BRS Cometa (314)	-	Cultivar Embrapa	Carioca	Média
ANFC9 (309)	-	Cultivar AgroNorte	Carioca	Média
Rio Doce (238)	-	Cultivar Incaper	Carioca	Médio
CNFP 15304 (32)	-	Cultivar Embrapa	Preto	Médio
BRS Esteio (317)	-	Cultivar Embrapa	Preto	Média
Sem identificação (28)	-	Crioulo	Preto	Médio
Carioca Preto e Branco (79)	-	Crioulo	Carioca	Pequeno
Manteiga (229)	Curitiba	Crioulo	Preto	Médio
BRS Campeiro (313)	-	Cultivar Embrapa	Preto	Médio
Nova planta (241)	Linhares	Crioulo	Cores	Pequeno
Nova planta (304)	Linhares	Crioulo	Cores	Média
feijão (286)	Venda Nova	Crioulo	Cores	Média
feijão (305)	Alfredo Chaves	Crioulo	Preto	Média
Biquinho de Ouro (159)	-	Crioulo	Rosinha	Pequeno
Carioca (170)	Adésio	Crioulo	Carioca	Médio
Goytacazes (237)	-	Cultivar Incaper	Carioca	Médio
Jaulinha (260)	Colatina	Crioulo	Preto	Pequeno
Vagem Riscado (95)	Roseira	Crioulo	Preto	Média
Preto (69)	-	Crioulo	Preto	Médio
BRS Notável (326)	-	Cultivar Embrapa	Carioca	Média
Carioca (23)	-	Crioulo	Carioca	Médio
BRS Estilo (318)	-	Cultivar Embrapa	Carioca	Média
Carioca (24)	-	Crioulo	Carioca	Médio
IPR IAPAR 81 (344)	-	Cultivar Iapar	Carioca	Médio
Carioca (130)	Venda Nova	Crioulo	Carioca	Médio
IAC Diplomata (336)	-	Cultivar IAC	Preto	Média
Mulato (198)	Alegre	Crioulo	Mulatinho	Médio
IAC Formoso (337)	-	Cultivar IAC	Carioca	Média
Carioquinha (307)	Alfredo Chaves	Crioulo	Carioca	Média
Preto (125)	Domingos Martins	Crioulo	Preto	Médio
BRS Requite (330)	-	Cultivar Embrapa	Carioca	Média
Manteiga (99)	Roseira	Crioulo	Rosinha	Média
Feijão Terrinha (247)	Domingos Martins	Crioulo	Cores	Médio

Continuação...

Beje (242)	Linhares	Crioulo	Cores	Médio
Carioca Vermelho (168)	Adésio	Crioulo	Cores	Pequeno
Carioca Comum (195)	Alegre	Crioulo	Carioca	Pequeno
Carioca (175)	-	Crioulo	Carioca	Médio
Feijão Preto (277)	Iúna	Crioulo	Preto	Média
Rosinha Carioca (205)	Alegre	Crioulo	Rosinha	Pequeno
Bico de Ouro (128)	Irupi	Crioulo	Vermelho	Pequeno
Rosinha (179)	-	Crioulo	Rosinha	Pequeno
Macaquinho (161)	Alegre	Crioulo	Rosinha	Pequeno
Feijão Terrinha (281)	Iúna	Crioulo	Cores	Média
BRS Pitanga (327)	-	Cultivar Embrapa	Roxo	Pequeno
Feijão Terrinha (279)	Iúna	Crioulo	Cores	Média
Feijão de arranque (255)	Colatina	Crioulo	Preto	Médio
Terrinha (126)	Irupi	Crioulo	Cores	Médio
Preto Fosco (212)	Manhumirim	Crioulo	Preto	Grande
TAA Gol (354)	-	Cultivar TAA	Carioca	Média
Feijão Terrinha (285)	Iúna	Crioulo	Cores	Média
Trepador (103)	Ibitirama	Crioulo	Preto	Média
Vagem riscada (11)	Muniz Freire	Crioulo	Preto	Médio
Feijão carioca (280)	Iúna	Crioulo	Carioca	Média
Galinha (131)	Guaçuí	Crioulo	Cores	Pequena
CNFC 15625 (20)	-	Cultivar Embrapa	Carioca	Médio
Carioquinha (251)	Vitória	Crioulo	Carioca	Pequeno
Preto (107)	Guaçuí	Crioulo	Preto	Média
Pontal (51)	-	Crioulo	Carioca	Média
Bico de Ouro (98)	Guaçuí	Crioulo	Vermelho	Média
Rosinha (228)	Curitiba	Crioulo	Rosinha	Médio
Carioca (25)	-	Crioulo	Carioca	Médio
feijão 118 (291)	-	Crioulo	Carioca	Média
BRS Pontal (328)	-	Cultivar Embrapa	Carioca	Média
Preto (33)	-	Crioulo	Preto	Grande
Terrinha (39)	Guaçuí	Crioulo	Cores	Médio
BRS Sublime (331)	-	Cultivar Embrapa	Carioca	Média
CNFC 15502 (178)	-	Cultivar Embrapa	Carioca	Médio
Preto comum (258)	Colatina	Crioulo	Carioca	Médio
Vermelho (174)	Matheus Alegre	Crioulo	Vermelho	Médio
BRS Vereda (332)	-	Cultivar Embrapa	Rosinha	Médio
Riscado Preto (52)	Iúna	Crioulo	Cores	Média
Preto Jalo (201)	Alegre	Crioulo	Cores	Grande
BaitãoMamoninha (152)	-	Crioulo	Cores	Pequeno
Macuquinho (87)	Alegre	Crioulo	Cores	Pequena
Campo Salis Verde (123)	Guaçuí	Crioulo	Cores	Médio
BRS FC104 (320)	-	Cultivar Embrapa	Carioca	Média
Preto (134)	Santa Tereza	Crioulo	Preto	Médio
IAC Alvorada (335)	-	Cultivar IAC	Carioca	Média
Carioca Comercial (122)	Irupi	Crioulo	Cores	Médio
Carioca Preto (203)	Alegre	Crioulo	Rajado	Médio
Cavalo Marrom (160)	-	Crioulo	Jalo	Grande
Preto Vidro (74)	-	Crioulo	Preto	Grande
IAC Imperador (338)	-	Cultivar IAC	Carioca	Média
Feijão Fradinho (248)	Linhares	Crioulo	Cores	Médio
Carioca (136)	Santa Tereza	Crioulo	Carioca	Médio
Vagem riscada (8)	Acaráí	Crioulo	Preto	Médio
Marrom (112)	Santa Angélica	Crioulo	Cores	Médio

Continuação...

CNFC 15462 (21)	-	Cultivar Embrapa	Carioca	Médio
CNFC 15475 (93)	-	Cultivar Embrapa	Carioca	Média
Preto 60 dias (102)	Ibitirama	Crioulo	Preto	Média
Feijão amarelo (261)	Colatina	Crioulo	Cores	Pequena
Preto AF (154)	-	Crioulo	Preto	Médio
IPR Andorinha (341)	-	Cultivar Iapar	Carioca	Média
BRS Marfim (325)	-	Cultivar Embrapa	Mulatinho	Média
IAC Milênio (339)	-	Cultivar IAC	Carioca	Média
BRS Horizonte (324)	-	Cultivar Embrapa	Carioca	Média

Continuação...

Apêndice 2. Descrição dos 23 SSR utilizado na caracterização de 249 acessos de feijão comum. *AA*: Amplitude alélica; *GL*: grupo de ligação; *Na*: número alélico; *He*: heterozigosidade esperada; *Ho*: heterozigosidade observada; *f*: índice de fixação; *PIC*: conteúdo de informação polimórfico.

Panel	Marcador	Dye	Forward	Reverse	Motivo	AA	GL	Na	He	Ho	f	PIC
1	BMI43	HEX	GGGAAATGAACAGAGGAAA	ATGTTGGGAACCTTTAGTGTG	(GA)35	111-167	2	13,00	0,86	0,11	0,87	0,84
	PVBR25	6-FAM	GAGCTTCTCCGTCCTGTGIGT	CGAACTGAATCAGAAAGGAA	(CT)23	153-181	9	14,00	0,88	0,05	0,94	0,87
	BMI64	NED	CCACCACAAGGAGAAGCAAC	ACCAATTCAGGCCGATACTCC	(GT)9(GA)21	131-181	2	9,00	0,41	0,01	0,97	0,39
	BM114	6-FAM	AGCCTGGTGAAATGCTCATAG	CATGCTTGTGTGCTAACTCTCT	(TA)8(GT)10	235-263	9	12,00	0,82	0,03	0,97	0,80
	BMI38	NED	TGTCCTAAGAACGAATATGGAATC	GAATCAAGCAACCTTGGATCATAAC	(GT)13	189-205	5	8,00	0,47	0,02	0,96	0,43
	PVBR169	HEX	TGGAAAGTCGGAGGAGAAGA	AAAAGGGTCCCAACCAAAAC	(GA)6	193-211	3	9,00	0,58	0,05	0,92	0,52
2	PVBR5	HEX	ATTAGACCGCTGATGACAGAG	AGCAGAATCCCTTGTAGTGTG	(GA)22	159-191	6	12,00	0,82	0,06	0,93	0,80
	PVBR35	6-FAM	TCTACCGTTCCTCTGTCT	AGTGGATGTGTGGGAAAAGC	(TC)10	200-256	4	13,00	0,69	0,03	0,96	0,67
	BM202	6-FAM	ATGCGAAAGAGGAACAATCG	CCTTTACCCACACGCCCTTC	(GA)9GT(GA)4	130-174	11	9,00	0,66	0,03	0,95	0,62
	BM189	NED	CTCCCACTCTCACCCCTCACT	GCGCCAAGTGAACCTAAGTAGA	(CT)13	89-119	3	8,00	0,51	0,03	0,95	0,48
	BM210	NED	ACCACTGCAATCCTCATCTTTG	CCCTCATCCTCCATCTTATCG	(CT)15	160-186	7	14,00	0,78	0,06	0,93	0,75
	BM155	HEX	GTTCATGTTGTTGACAGTICA	CAGAAGTAGTGTGGTTGATACA	(CA)8	103-123	5	4,00	0,36	0,00	1,00	0,30
	BM187	HEX	TTTCTCCAACCTCCTCTTCC	TGTGTTTGTGTCCGAATTATGA	(CT)10T(CT)14	118-262	6	22,00	0,84	0,04	0,95	0,82
3	PVBR113	NED	TGCATCTCTCCCATCTT	TTGATTTGATTTGATCAGTGGTG	(GA)32	83-105	6	7,00	0,66	0,02	0,96	0,62
	PVBR87	NED	CTCATGTGGICTACCAGTGC	CCTAGGTTCGCGAGCATGT	(GA)16	140-186	5	12,00	0,67	0,07	0,90	0,65
	PVBR272	6-FAM	CAGAACAGAAGAAGAAACAGAAAATG	GCGTGTCCCTGTGTGTGT	(GA)17	76-117	2	15,00	0,87	0,03	0,97	0,86
	BM154	6-FAM	TCTTGGACCGAGCTTCTCC	CTGAATCTGAGGAACGATGACCAG	(CT)17	202-302	9	25,00	0,91	0,03	0,97	0,90
	PVBR13	6-FAM	TGAGAAAGTTGATGGGATTG	ACGCTGTTGAAGGCTCTAC	(AG)23	167-203	6	10,00	0,82	0,07	0,91	0,80
4	PVBR11	HEX	AAACTCAAAGTCGTTGTCC	CCACTGACTCTAGCTCCTCC	(TC)8(GT)4	172-188	2	3,00	0,65	0,02	0,96	0,57
	BM181	NED	ATGCTGCGAGTTAATGATCG	TGAGGAGCAAACAGATGAGG	(CT)17	182-194	5	5,00	0,48	0,00	0,99	0,45
	BM183	6-FAM	CTCAAATCTATTCAGTGTGACG	TCTTACAGCCTTGCAGACATC	(TC)14	124-168	7	13,00	0,75	0,03	0,96	0,72
	BM201	NED	TGGTGTACAGACTTGATGG	TGTACCTCTCTCCCAAT	(GA)15	88-112	1	8,00	0,81	0,22	0,73	0,78
	PVBR251	HEX	TGAAGTTGCAGCTAGGTTGG	GGTTGTGCTGTGTGTGTTGG	(CT)7	204-206	1	2,00	0,30	0,00	0,99	0,25
Média	-	-	-	-	-	-	-	10.74±1.13	0.68±1.13	0.04±1.13	0.94±1.13	0,65

Apêndice 3. Coeficientes de adesão posteriores após análise STRUCTURE para k=2.

Nome (identificação numérica)	SSRs			SNPs		
	Cluster 1	Cluster2	Grupo	Cluster 1	Cluster2	Grupo
Palhacinho (1)	0,999	0,001	1	1,0000	0,0000	1
Manteiga bege claro (3)	0,999	0,001	1	1,0000	0,0000	1
Amendoim (14)	0,999	0,001	1	1,0000	0,0000	1
Feijão rainha (18)	0,999	0,001	1	1,0000	0,0000	1
Amendoim (42)	0,999	0,001	1	1,0000	0,0000	1
Amendoim (43)	0,999	0,001	1	1,0000	0,0000	1
Bolinha (63)	0,999	0,001	1	1,0000	0,0000	1
Manteigão (76)	0,999	0,001	1	1,0000	0,0000	1
Preto Gigante (124)	0,999	0,001	1	1,0000	0,0000	1
Rim de Paca (129)	0,999	0,001	1	0,0030	0,9970	2
Amarelo (133)	0,999	0,001	1	1,0000	0,0000	1
Palhacinho (145)	0,999	0,001	1	1,0000	0,0000	1
Feijão Cavalo (147)	0,999	0,001	1	1,0000	0,0000	1
Amendoim (171)	0,999	0,001	1	0,0000	1,0000	2
Amendoim (207)	0,999	0,001	1	1,0000	0,0000	1
Vermelho (208)	0,999	0,001	1	1,0000	0,0000	1
Vermelho (213)	0,999	0,001	1	1,0000	0,0000	1
Bolinha amarela (227)	0,999	0,001	1	1,0000	0,0000	1
Cavalo espanhol (234)	0,999	0,001	1	1,0000	0,0000	1
Palhacinho (243)	0,999	0,001	1	1,0000	0,0000	1
Palhacinho (245)	0,999	0,001	1	1,0000	0,0000	1
Feijão Manteigão (246)	0,999	0,001	1	1,0000	0,0000	1
Vermelho (249)	0,999	0,001	1	0,0000	1,0000	2
Manteigão (265)	0,999	0,001	1	1,0000	0,0000	1
BRS Embaixador (315)	0,999	0,001	1	0,9990	0,0010	1
BRS Executivo (319)	0,999	0,001	1	1,0000	0,0000	1
BRS Radiante (329)	0,999	0,001	1	0,9990	0,0010	1
Verde (53)	0,999	0,001	1	1,0000	0,0000	1
Carioca Mamoninho (85)	0,999	0,001	1	1,0000	0,0000	1
Verde (109)	0,999	0,001	1	1,0000	0,0000	1
Verde (114)	0,999	0,001	1	0,0000	1,0000	2
Corujinha (204)	0,999	0,001	1	1,0000	0,0000	1
Vermelho (209)	0,999	0,001	1	1,0000	0,0000	1
Carnaval (226)	0,999	0,001	1	0,9990	0,0010	1
Vermelho Rondonia (264)	0,999	0,001	1	1,0000	0,0000	1
BRSMG Realce (333)	0,999	0,001	1	1,0000	0,0000	1
BRSMG União (334)	0,999	0,001	1	0,9990	0,0010	1

Manteiga vermelho (2)	0,999	0,001	1	1,0000	0,0000	1
Botina (48)	0,999	0,001	1	0,0010	0,9990	2
Palhacinho (54)	0,999	0,001	1	1,0000	0,0000	1
Verde (68)	0,999	0,001	1	1,0000	0,0000	1
Verde (111)	0,999	0,001	1	1,0000	0,0000	1
Vermelho (132)	0,999	0,001	1	0,9990	0,0010	1
Mulato Manteigão (206)	0,999	0,001	1	1,0000	0,0000	1
Preto (214)	0,999	0,001	1	1,0000	0,0000	1
Jalo (233)	0,998	0,002	1	1,0000	0,0000	1
BRS FS05 (323)	0,999	0,001	1	0,9600	0,0400	1
Feijão Verde (26)	0,999	0,001	1	1,0000	0,0000	1
Boreal (44)	0,999	0,001	1	0,9670	0,0330	1
Preto (104)	0,999	0,001	1	1,0000	0,0000	1
Jalo Precoces (349)	0,999	0,001	1	0,9910	0,0090	1
Preto (200)	0,999	0,001	1	0,9980	0,0020	1
Preto Brilhoso (211)	0,999	0,001	1	1,0000	0,0000	1
Vermelho (253)	0,999	0,001	1	0,9990	0,0010	1
Manteigão (196)	0,997	0,003	1	1,0000	0,0000	1
Verde Cristo Rei (81)	0,998	0,002	1	1,0000	0,0000	1
Branco (5)	0,997	0,003	1	0,1010	0,8990	2
BRS Ártico (312)	0,994	0,006	1	0,9580	0,0420	1
IPR Garça (343)	0,987	0,013	1	0,9650	0,0350	1
Bege (135)	0,991	0,009	1	1,0000	0,0000	1
Rajado (268)	0,985	0,015	1	1,0000	0,0000	1
Cavalo (223)	0,99	0,01	1	0,0000	1,0000	2
Branco (235)	0,923	0,077	1	0,5670	0,4330	H
Feijão rajado (302)	0,595	0,405	H	0,6340	0,3660	H
Bico de Ouro (115)	0,002	0,998	2	0,0000	1,0000	2
Bico de ouro (12)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2
Vermelho (17)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2
Vermelho (19)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2
Carioca (27)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2
Vermelho (113)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2
Bico de Ouro (120)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2
Vermelho (142)	0,001	0,999	2	1,0000	0,0000	1
Vermelho (148)	0,001	0,999	2	0,0050	0,9950	2
Vermelho Tradicional (157)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2
Vagem Riscada (172)	0,001	0,999	2	1,0000	0,0000	1
Vermelho Serafino (290)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2
Feijão vermelho (294)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2

Continuação...

Feijão roxinho (300)	0,001	0,999	2	0,0010	0,9990	2
Vermelho (308)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2
Mata-mulher (15)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2
Roxinho (61)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2
Feijão (72)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2
Vermelho (127)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2
Roxinho (158)	0,001	0,999	2	0,0010	0,9990	2
Vermelho (82)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2
Vermelho (108)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2
Vermelho (116)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2
Vermelho Ouro (141)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2
Vermelho (146)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2
Vermelho (86)	0,001	0,999	2	0,0010	0,9990	2
Porto Alegre (254)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2
Vermelho (9)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2
Vermelho (84)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2
Vermelhinho (62)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2
Feijão (71)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2
Vermelho (78)	0,004	0,996	2	0,0000	1,0000	2
Vermelho (83)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2
Vermelho Antigo (155)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2
Vage Riscado (97)	0,037	0,963	2	0,0000	1,0000	2
Vermelho (73)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2
Feijão Pioneiro (151)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2
Ouro Vermelho (350)	0,097	0,903	2	0,0000	1,0000	2
Feijão roxinho (301)	0,001	0,999	2	0,0010	0,9990	2
Nego Doido (37)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2
Preto (118)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2
Preto (31)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2
Preto (50)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2
Bico de Ouro (88)	0,012	0,988	2	0,0000	1,0000	2
Amendoim Preto (40)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2
Bico de Ouro (47)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2
Carioca Riscado (215)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2
Isaías (46)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2
Vagem Riscada (92)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2
Preto (4)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2
Preto (259)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2
Xamego (239)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2
CNFP 15310 (90)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2

Continuação...

Quadrado (156)	0,001	0,999	2	0,8090	0,1910	1
Feijão vermelho escuro (299)	0,001	0,999	2	0,0120	0,9880	2
Preto (49)	0,001	0,999	2	1,0000	0,0000	1
Carioca (105)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2
Vinho (121)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2
Paina (275)	0,001	0,999	2	0,0010	0,9990	2
Bola Cheia (77)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2
Manteigão vermelho (252)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2
TAA Dama (353)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2
Carioca (22)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2
Preto 90 dias (199)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2
Vagem Branca (272)	0,001	0,999	2	0,0730	0,9270	2
Feijão Preto (298)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2
IPR 139 (340)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2
IPR Tuiuiu (347)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2
Pérola (351)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2
TAA Bola Cheia (352)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2
Preto (30)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2
Paina (274)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2
Preto (173)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2
Mulatinho (197)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2
BRS FC402 (321)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2
Terrinha (187)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2
Vermelho Escuro (64)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2
IPR Campos Gerais (342)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2
IPR Uirapuru (348)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2
Preto (89)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2
CNFP 15302 (177)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2
feijão 115 (288)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2
Caetezinho (250)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2
feijão 113 (287)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2
Feijão Caetezinho (263)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2
BRS FC403 (322)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2
Rio Tibagi (240)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2
Preto (29)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2
Feijão (149)	0,002	0,998	2	0,0000	1,0000	2
Biodinâmica (66)	0,001	0,999	2	0,0010	0,9990	2
IPR Tangará (346)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2
BRS Ametista (311)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2
Porto Real (306)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2

Continuação...

BRS Agreste (310)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2
Serrano (176)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2
Vagem preta (303)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2
feijão (276)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2
BRS Esplendor (316)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2
IPR Juriti (345)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2
Manteiga Amerelo (41)	0,001	0,999	2	0,0010	0,9990	2
Vagem riscada (10)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2
Vagem Branca (278)	0,024	0,976	2	0,0000	1,0000	2
Feijão (60)	0,036	0,964	2	0,0160	0,9840	2
Vermelho (70)	0,099	0,901	2	0,0000	1,0000	2
CNFP 15290 (91)	0,047	0,953	2	0,0010	0,9990	2
BRS Cometa (314)	0,001	0,999	2	0,0760	0,9240	2
ANFC9 (309)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2
Rio Doce (238)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2
CNFP 15304 (32)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2
BRS Esteio (317)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2
Sem identificação (28)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2
Carioca Preto e Branco (79)	0,081	0,919	2	0,0150	0,9850	2
Manteiga (229)	0,001	0,999	2	0,0920	0,9080	2
BRS Campeiro (313)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2
Nova planta (241)	0,002	0,998	2	0,0130	0,9870	2
Nova planta (304)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2
feijão (286)	0,002	0,998	2	0,0000	1,0000	2
feijão (305)	0,001	0,999	2	0,0050	0,9950	2
Biquinho de Ouro (159)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2
Carioca (170)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2
Goytacazes (237)	0,069	0,931	2	0,0000	1,0000	2
Jaulinha (260)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2
Vagem Riscado (95)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2
Preto (69)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2
BRS Notável (326)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2
Carioca (23)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2
BRS Estilo (318)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2
Carioca (24)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2
IPR IAPAR 81 (344)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2
Carioca (130)	0,001	0,999	2	0,0040	0,9960	2
IAC Diplomata (336)	0,134	0,866	2	0,0510	0,9490	2
Mulato (198)	0,001	0,999	2	0,0090	0,9910	2
IAC Formoso (337)	0,001	0,999	2	0,0010	0,9990	2

Continuação...

Carioquinha (307)	0,001	0,999	2	0,0010	0,9990	2
Preto (125)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2
BRS Requite (330)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2
Manteiga (99)	0,001	0,999	2	0,0320	0,9680	2
Feijão Terrinha (247)	0,001	0,999	2	0,0360	0,9640	2
Beje (242)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2
Carioca Vermelho (168)	0,001	0,999	2	1,0000	0,0000	1
Carioca Comum (195)	0,001	0,999	2	0,0040	0,9960	2
Carioca (175)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2
Feijão Preto (277)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2
Rosinha Carioca (205)	0,001	0,999	2	0,0180	0,9820	2
Bico de Ouro (128)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2
Rosinha (179)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2
Macaquinho (161)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2
Feijão Terrinha (281)	0,001	0,999	2	0,0710	0,9290	2
BRS Pitanga (327)	0,001	0,999	2	0,0740	0,9260	2
Feijão Terrinha (279)	0,001	0,999	2	0,0690	0,9310	2
Feijão de arranque (255)	0,001	0,999	2	0,0670	0,9330	2
Terrinha (126)	0,001	0,999	2	0,0670	0,9330	2
Preto Fosco (212)	0,003	0,997	2	0,1190	0,8810	2
TAA Gol (354)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2
Feijão Terrinha (285)	0,001	0,999	2	0,0700	0,9300	2
Trepador (103)	0,001	0,999	2	0,0180	0,9820	2
Vagem riscada (11)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2
Feijão carioca (280)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2
Galinha (131)	0,001	0,999	2	0,0150	0,9850	2
CNFC 15625 (20)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2
Carioquinha (251)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2
Preto (107)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2
Pontal (51)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2
Bico de Ouro (98)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2
Rosinha (228)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2
Carioca (25)	0,001	0,999	2	0,0070	0,9930	2
feijão 118 (291)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2
BRS Pontal (328)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2
Preto (33)	0,003	0,997	2	0,1200	0,8800	2
Terrinha (39)	0,014	0,986	2	0,0000	1,0000	2
BRS Sublime (331)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2
CNFC 15502 (178)	0,002	0,998	2	0,0000	1,0000	2
Preto comum (258)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2

Continuação...

Vermelho (174)	0,007	0,993	2	0,0000	1,0000	2
BRS Vereda (332)	0,001	0,999	2	0,0670	0,9330	2
Riscado Preto (52)	0,003	0,997	2	1,0000	0,0000	1
Preto Jalo (201)	0,001	0,999	2	0,0020	0,9980	2
BaitãoMamoninha (152)	0,002	0,998	2	0,0350	0,9650	2
Macuquinho (87)	0,001	0,999	2	0,8040	0,1960	1
Campo Salis Verde (123)	0,102	0,898	2	0,0890	0,9110	2
BRS FC104 (320)	0,012	0,988	2	0,0000	1,0000	2
Preto (134)	0,001	0,999	2	1,0000	0,0000	1
IAC Alvorada (335)	0,001	0,999	2	0,1840	0,8160	2
Carioca Comercial (122)	0,001	0,999	2	0,0780	0,9220	2
Carioca Preto (203)	0,001	0,999	2	0,0160	0,9840	2
Cavalo Marrom (160)	0,002	0,998	2	0,1480	0,8520	2
Preto Vidro (74)	0,251	0,749	H	0,0750	0,9250	2
IAC Imperador (338)	0,099	0,901	2	0,0560	0,9440	2
Feijão Fradinho (248)	0,001	0,999	2	0,5030	0,4970	H
Carioca (136)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2
Vagem riscada (8)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2
Marrom (112)	0,002	0,998	2	0,0220	0,9780	2
CNFC 15462 (21)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2
CNFC 15475 (93)	0,002	0,998	2	0,0000	1,0000	2
Preto 60 dias (102)	0,001	0,999	2	1,0000	0,0000	1
Feijão amarelo (261)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2
Preto AF (154)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2
IPR Andorinha (341)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2
BRS Marfim (325)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2
IAC Milênio (339)	0,03	0,97	2	0,1380	0,8620	2
BRS Horizonte (324)	0,001	0,999	2	0,0000	1,0000	2

Apêndice 4. Os 265 acessos de feijão agrupados nos 17 grupos gerados pela análise *neighbor joining* com a combinação de 23 SSRs e 251 SNPs.

Grupo	Subgrupo	Acessos Crioulos	Comerciais
AND	Subgrupo 1	Carioca Mamoninho (85), Corujinha (204), Manteiga vermelho (2), Vermelho (132), Mulato Manteigão (206), Vermelho (253), Branco (235), Feijão rajado (302), Feijão Fradinho (248)	BRS Embaixador (315), BRS FS05 (323), Boreal (44), BRS Ártico (312), IPR Garça (343)
	Subgrupo 2	Verde (53), Verde (68), Verde (111), Preto (214), Jalo (233), Feijão Verde (26), Preto (104), Verde Cristo Rei (81), Rajado (268)	BRS Radiante (329), BRSMG Realce (333), BRSMG União (334), Jalo Precoce (349)
	Subgrupo 3	Palhacinho (1), Amendoim (14), Bolinha (63), Preto Gigante (124), Palhacinho (145), Palhacinho (243), Palhacinho (245), Verde (109), Carnaval (226), Vermelho Rondonia (264), Palhacinho (54), Preto (200), Preto Brilhoso (211)	-
	Subgrupo 4	Manteiga bege claro (3), Feijão rainha (18), Amendoim (42), Amendoim (43), Manteigão (76), Amarelo (133), Feijão Cavalo (147), Amendoim (207), Vermelho (208), Vermelho (213), Bolinha amarela (227), Feijão Manteigão (246), Manteigão (265), Vermelho (209) Manteigão (196) Bege (135)	BRS Executivo (319), BRSMG União (334)
MÉS	Subgrupo 5	Vermelho (83), Nego Doido (37), Preto (50), Carioca Riscado (215), Vagem Riscada (92), Rio Doce (238), Vagem Riscado (95), Preto Fosco (212), Galinha (131), Carioca (25), Preto (33), Carioca Comercial (122), Cavalo Marrom (160), Preto Vidro (74)	BRS FC402 (321), IAC Alvorada (335), IAC Milênio (339)
	Subgrupo 6	Feijão (276), Manteiga Amarelo (41), Rosinha Carioca (205), Feijão Terrinha (281), Feijão Terrinha (279), Feijão de arranque (255), Terrinha (126), Feijão Terrinha (285), Trepador (103), BaitãoMamoninha (152), Campo Salis Verde (123), Marrom (112)	BRS Pitanga (327), BRS Vereda (332)
	Subgrupo 7	Carioca Preto e Branco (79), Carioca (23), Pontal (51)	BRS Notável (326), BRS Pontal (328) BRS FC104 (320) BRS Marfim (325)
	Subgrupo 8	Preto (89), Beje (242), Carioca (175), Bico de Ouro (128), Feijão carioca (280),	TAA Gol (354), CNFC 15625 (20), IPR Andorinha

Continuação...

	Rosinha (228), feijão 118 (291), Terrinha (39)	(341)
Subgrupo 9	Carioca (22), Cariquinha (307), Carioca (136)	Xamego (239), Goytacazes (237), IPR IAPAR 81 (344), CNFC 15462 (21)
Subgrupo 10	Mulato (198), Manteiga (99), Feijão Terrinha (247), Carioca Comum (195), Preto Jalo (201), Carioca Preto (203)	IAC Diplomata (336), IAC Imperador (338)
Subgrupo 11	Sem identificação (28), Biquinho de Ouro (159), Carioca (24), Carioca (130), Preto comum (258)	IPR 139 (340), IPR Campos Gerais (342), IPR Tangará (346), BRS Agreste (310), IPR Juriti (345), ANFC9 (309), CNFP 15304 (32), BRS Campeiro (313), BRS Estilo (318), IAC Formoso (337), BRS Sublime (331), CNFC 15475 (93), BRS Horizonte (324)
Subgrupo 12	Feijão vermelho escuro (299), Vermelho Escuro (64), Feijão (149), Feijão (60), Vermelho (70), Bico de Ouro (128), Rosinha (179)	BRS Cometa (314)
Subgrupo 13	Roxinho (61), Paina (275), Vagem Branca (272), Paina (274), Vagem riscada (10), Vagem Branca (278)	CNFP 15302 (177), Rio Tibagi (240), Serrano (176), CNFP 15290 (91), BRS Esteio (317)
Subgrupo 14	Preto (31), Manteigão vermelho (252), Preto 90 dias (199), Feijão Preto (298), Preto (30), Preto (173), Mulatinho (197), Terrinha (187), feijão 113 (287), Preto (29), Preto (69), Feijão Preto (277), Preto AF (154)	IPR Tuiuiu (347), IPR Uirapuru (348), BRS FC403 (322), BRS Esplendor (316)
Subgrupo 15	Amendoim Preto (40), Preto (4), Preto (259), Carioca (105) Bola Cheia (77), Biodinâmica (66), Porto Real (306), feijão (286), Carioca (170)	CNFP 15310 (90), TAA Dama (353), Pérola (351), TAA Bola Cheia (352), BRS Ametista (311), BRS Requite (330)
Subgrupo 16	Preto (118), feijão 115 (288), Caetezinho (250), Feijão Caetezinho (263), Vagem preta (303), Manteiga (229), Nova planta (241), Nova planta (304), feijão (305), Jaulinha (260), Preto (125), Macaquinho (161), Vagem riscada (11), Preto (107), Feijão amarelo (261)	CNFC 15502 (178)
Subgrupo 17	Bico de Ouro (115), Bico de ouro (12), Vermelho (17), Vermelho (19), Carioca	-

(27), Vermelho (113), Bico de Ouro (120), Vermelho (148), Vermelho Tradicional (157), Vermelho Serafino (290), Feijão vermelho (294), Feijão roxinho (300), Vermelho (308), Mata-mulher (15), Feijão (72), Vermelho (127), Roxinho (158), Vermelho (82), Vermelho (108), Vermelho (116), Vermelho Ouro (141), Vermelho (146), Vermelho (86), Porto Alegre (254), Vermelho (9), Vermelho (84), Vermelhinho (62), Feijão (71), Vermelho (78), Vermelho Antigo (155), Vage Riscado (97), Vermelho (73), Feijão Pioneiro (151), Ouro Vermelho (350), Feijão roxinho (301), Bico de Ouro (47), Isaías (46), Carioquinha (251), Bico de Ouro (98), Vermelho (174), Vagem riscada (8)

108 **Apêndice 5.** Estrutura de populações inferida por abordagem Bayesiana em 249 acessos de feijão comum baseada na combinação de 23 SSR e 217 SNPs com K= 2. Cada grupo é representado por uma cor, cada indivíduo é representado por uma barra vertical. Linhas de duas cores representam genótipos com mistura.

