



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ
PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA/AGRICULTURA TROPICAL

JÉSSICA DANIELE LUSTOSA DA SILVA

**DIVERSIDADE, ESTRUTURA E EROÇÃO GENÉTICA DO
FEIJÃO-FAVA (*Phaseolus lunatus*) NO NORDESTE DO
BRASIL**

TERESINA – PI

2019

JÉSSICA DANIELE LUSTOSA DA SILVA

**DIVERSIDADE, ESTRUTURA E EROSÃO GENÉTICA DO FEIJÃO-FAVA
(*Phaseolus lunatus*) NO NORDESTE DO BRASIL**

Tese apresentada à Universidade Federal do Piauí,
como parte das exigências do Programa de Pós-
Graduação em Agronomia - Agricultura Tropical,
para obtenção do título de Doutora em Ciências
com área de concentração em Agricultura Tropical.

Orientadora

Dr^a. Ângela Celis de Almeida Lopes

Co-orientadores

Dr^a. Regina Lúcia Ferreira Gomes

Dr. Jaime Martínez Castillo

TERESINA – PI

2019

FICHA CATALOGRÁFICA
Universidade Federal do Piauí
Biblioteca Setorial do Centro de Ciências Agrárias
Serviço de Processamento Técnico

S586d Silva, Jéssica Daniele Lustosa da
Diversidade, estrutura e erosão genética do feijão-fava (*Phaseolus lunatus*) no nordeste do Brasil / Jéssica Daniele Lustosa da Silva
2019.

124 f. : il.

Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Piauí, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Teresina, 2019.

Orientação: Prof^a. Dr.^aAngela Celis de Almeida Lopes

1. Agricultura tradicional 2. Marcadores microssatélites 3. Perda de diversidade 4. Recursos genéticos 5. Etnoagronomia I. Título

CDD 630.2745

JÉSSICA DANIELE LUSTOSA DA SILVA

**DIVERSIDADE, ESTRUTURA E EROSÃO GENÉTICA DO FEIJÃO-FAVA
(*Phaseolus lunatus*) NO NORDESTE DO BRASIL**

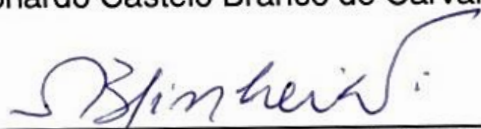
Tese apresentada à Universidade Federal do Piauí,
como parte das exigências do Programa de Pós-
Graduação em Agronomia- Agricultura Tropical,
para obtenção do título de Doutora em Ciências
com área de concentração em Agricultura Tropical.

Aprovada em 28 de 02 de 2019

Comissão Julgadora



Prof. Dr. Leonardo Castelo Branco de Carvalho – CCA/UFPI



Prof. Dr. José Baldin Pinheiro – USP/ESALQ



Profa. Dra. Verônica Brito da Silva – CCA/UFPI



Prof. Dr. Jardel Oliveira Santos - UFMA



Prof. Dr. Angela Celis de Almeida Lopes – CCA/UFPI

(Orientador)

TERESINA – PI

2019

Dedico aos meus pais Maria Celeste Lustosa Machado e José Pereira da Silva, que com imensurável incentivo e apoio necessário, me proporcionaram alcançar muitos objetivos importantes, como a conclusão deste doutorado, dos quais sozinha jamais seria possível. Também dedico ao meu esposo Leonardo Furtado de Oliveira por todo amor, afeto, paciência e colaboração constante.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter me concedido a oportunidade de estudar, além de força e coragem para perseverar e conseguir alcançar esse título;

À Universidade Federal do Piauí e ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Agricultura Tropical (PPGA-AT), pela oportunidade para realização deste curso;

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão das bolsas de doutorado e de Estágio Sanduiche realizada no Centro de Investigación Científica de Yucatán (CICY), Mérida, México;

Aos professores do PPGA-AT, por todos os ensinamentos;

As minhas orientadoras, Ângela Celis de Almeida Lopes e Regina Lucia Ferreira Gomes, pela atenção, carinho e por todos os ensinamentos acadêmicos e, principalmente, os não acadêmicos, que me fizeram amadurecer como pessoa, estudante e profissional;

Ao pesquisador Dr. Jaime Martínez Castillo, pela receptividade, ensinamentos, disponibilidade, pela permissão execução de análises laboratoriais nas dependências do CICY, pela confiança e preciosas contribuições para a realização deste trabalho e também por todo o apoio dado durante a minha estadia em Mérida, no período do doutorado sanduíche;

Aos técnicos Matilde Margarita Ortiz García e Jaime Alejandro Muñoz Lopez, e a aluna de graduação em biologia Alba Gabriela Sánchez Sosa pela amizade, colaboração e pelos ensinamentos na realização das análises laboratoriais no laboratório de marcadores na Unidad de Recursos Naturales no CICY;

A aluna de doutorado Grecia Montalvo Fernández, pela amizade, disposição para ajudar, ensinamentos e constantes na realização das análises estatísticas;

A Dr^a. Verônica Brito da Silva, Dr. Leonardo Castelo Branco Carvalho, e Dr. Geice Ribeiro da Silva e Rafael da Costa Almeida, pelas contribuições dadas para a este trabalho;

Aos colegas de turma e laboratório RGMV, pela colaboração durante as disciplinas cursadas e pelos consideráveis auxílios para execução desta pesquisa;

Aos amigos de uma vida toda, por todo o incentivo, por acreditarem e torcerem por mim;

Aos amigos da Unidad de Recursos Naturales no CICY, pelos momentos felizes e descontraídos durante do período de estadia em Mérida, México;

Ao meu esposo Leonardo Furtado de Oliveira, pelo amor, companheirismo, incentivo e inestimável ajuda para a realização deste trabalho;

Aos meus pais Maria Celeste Lustosa Machado e José Pereira da Silva, pela dedicação incessante durante toda a minha vida, para o alcance de cada um dos meus objetivos.

SUMÁRIO

RESUMO GERAL	xiii
ABSTRACT.....	xiv
1 INTRODUÇÃO GERAL.....	15
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	18
2.1 Gênero <i>Phaseolus</i> (Classificação Botânica).....	18
2.2 Centro de origem e distribuição geográfica do <i>Phaseolus lunatus</i> L.	18
2.3 Cultura do feijão-fava: aspectos gerais	20
2.4 Importância socioeconômica do feijão-fava.....	22
2.5 Diversidade genética do feijão-fava.....	25
2.6 Erosão genética	27
2.7. Importância das coleções de germoplasma e da conservação <i>on farm</i> para a manutenção da diversidade genética.....	28
2.8 – Importância dos estudos etnobotânicos para a conservação dos recursos genéticos	30
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	33
CAPÍTULO I - Diversidade e estrutura genética do feijão-fava (<i>Phaseolus lunatus</i> L.) no Nordeste do Brasil	42
Resumo	42
1. Introdução.....	42
2. Material e Métodos.....	45
3. Resultados e Discussão.....	53
4. Implicações para conservação e melhoramento	62
REFERÊNCIAS	64
CAPÍTULO II - Erosão genética do feijão-fava (<i>Phaseolus lunatus</i>) no Nordeste do Brasil do período de 1980 a 2016	68
Resumo	68
1. Introdução.....	68
2. Material e Métodos.....	70
3. Resultados e Discussão.....	78
4. Considerações finais.....	85
REFERÊNCIAS	87

CAPÍTULO III – Riqueza de variedades crioulas e o conhecimento tradicional associado ao feijão-fava no Nordeste brasileiro	91
Resumo	91
1. Introdução	91
2. Material e Métodos.....	94
3. Resultados e Discussão.....	97
4. Conclusões	110
REFERÊNCIAS	112
ANEXO A.....	116

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Identificação, dados geográficos e morfotipos de 42 genótipos (381 indivíduos) de feijão-fava do Nordeste do Brasil	47
Tabela 2. Características dos oito <i>locos</i> microssatélites utilizados na caracterização molecular de 42 genótipos de <i>Phaseolus lunatus</i> cultivadas no Nordeste do Brasil.....	51
Tabela 3. Análise de variância molecular não hierárquica (AMOVA) de 42 genótipos de feijão-fava.	54
Tabela 4. Estimadores de diversidade genética de 42 genótipos de feijão-fava analisados de forma não hierárquica.	58
Tabela 5. Estimativas da diversidade genética e coeficientes de endogamia de 42 genótipos de feijão-fava, agrupados por morfotipos.	60
Tabela 6. Estimativas da diversidade genética e coeficientes de endogamia de 42 genótipos de feijão-fava (<i>Phaseolus lunatus</i>), agrupados por estados.	61
Tabela 7. Estimadores de diversidade genética de 42 genótipos de feijão-fava agrupados com $k=2$, segundo a ancestralia de 70%......	62
Tabela 8. Identificação, dados geográficos e morfotipos de 54 genótipos de feijão-fava do Nordeste do Brasil.	72
Tabela 9. Características dos oito <i>locos</i> microssatélites utilizados na caracterização molecular de 54 genótipos de <i>Phaseolus lunatus</i> cultivadas no Nordeste do Brasil.....	76
Tabela 10. Análise de variância molecular hierárquica (AMOVA) e índices de diversidade F (WEIR; COCKERHAM, 1984).	79
Tabela 11. Estimativas da diversidade genética e coeficientes de endogamia de entre grupos de genótipos cultivados de <i>Phaseolus lunatus</i>	81
Tabela 12. Testes de Sign e teste de sinais de Wilcoxon para o excesso de heterozigose em grupos de genótipos cultivados em <i>Phaseolus lunatus</i>	82
Tabela 13. Comparação entre estimadores de diversidade genética e coeficientes de endogamia de entre grupos de genótipos cultivados de <i>Phaseolus lunatus</i>	84
Tabela 14. Testes de sinais de Wilcoxon para o excesso de heterozigose (LUIKART et al., 1998a) em grupos de genótipos cultivados em <i>Phaseolus lunatus</i> , considerando os morfotipos a1, a2, a6, a8, a9 e a11 para os dois grupos temporais (período de 2016 - 2014 e 1980).	85

Tabela 15. Identificação do local de coleta dos dados e número de entrevistados.	95
Tabela 16. Frequência observada (percentual e número de agricultores) com relação a aspectos preparo do solo e o uso de insumos no cultivo do feijão-fava.	100
Tabela 17. Variedades tradicionais de feijão-fava cultivadas em roçados em 19 municípios de do Ceará, Maranhão, Paraíba, Pernambuco e Piauí, Brasil. ...	108

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. a) Germinação da semente de feijão-fava; b) Planta de feijão-fava evidenciando as folhas trifoliadas e vagens; c) vagens coriáceas do feijão-fava.	21
Figura 2. Pontos de coleta dos 42 genótipos de feijão-fava (<i>Phaseolus lunatus</i>) coletados nos estados do Nordeste do Brasil.	46
Figura 3. Gráfico de valor de Delta K para os 42 genótipos analisados.	55
Figura 4. Análise de agrupamento de 42 genótipos de feijão-fava (<i>Phaseolus lunatus</i>) do Nordeste do Brasil. A ordem dos genótipos corresponde aos que estão apresentados na Tabela 1.	56
Figura 5. Análise de coordenadas principais (PCoA) com 42 genótipos cultivados de <i>Phaseolus lunatus</i> do Nordeste do Brasil, usando oito <i>locos</i> microsatélites. As cores do gráfico correspondem às mesmas cores dos grupos formados pelo STRUCTURE.	56
Figura 6. Pontos de coleta dos 54 genótipos de feijão-fava (<i>Phaseolus lunatus</i>) coletados nos estados do Ceará, Maranhão, Pernambuco, Paraíba e Piauí...	71
Figura 7. Localização dos pontos de coleta de 42 variedades tradicionais de feijão-fava coletados nos estados do Ceará, Maranhão, Paraíba, Pernambuco e Piauí, Brasil. Fonte: Arcgis.	94
Figura 8. Percentual de agricultores entrevistados com relação a: a) porcentagem de homens e mulheres e b) Faixa etária dos agricultores por estado.	97
Figura 9. Percentual de agricultores entrevistados com relação a: a) escolaridade e b) principal fonte de renda.	99
Figura 10. Tipos de tutores usados para dar sustentação à planta de feijão-fava. a) Planta de feijão-fava tutorada pelo milho; b) Planta de feijão-fava tutorada por cerca, poste e mamoeiro.	102
Figura 11. Formas de armazenamento e conservação das sementes de feijão-fava, a) armazenamento em garrafas pet; b) armazenamento em silos de zinco; e c) utilização de cinza e pimenta-do-reino como forma de repelente de pragas de grãos armazenados e para evitar a eclosão de novos ovos de gorgulho. .	104
Figura 12. Parte dos morfotipos encontrados entre as variedades tradicionais de feijão-fava coletadas junto aos agricultores familiares nos estados do Ceará, Maranhão, Paraíba, Pernambuco e Piauí.	107

RESUMO GERAL

O feijão-fava (*Phaseolus lunatus*) representa uma importante fonte de proteína vegetal, sendo uma das leguminosas mais utilizadas para a alimentação da população da região Nordeste do Brasil, com forte relevância social e econômica. No Brasil, por ser uma zona de convergência entre centros de domesticação, existe elevada diversidade. Apesar disso, devido as pressões de mercado, tem-se observado a homogeneização dos cultivos e mudanças nas práticas agrícolas. Cenários como este podem levar a eventos de redução da diversidade genética da espécie no país. Contudo, poucos trabalhos são realizados com o intuito de avaliar e monitorar os níveis de diversidade genética do feijão-fava no Brasil. Assim, o objetivo desse trabalho foi caracterizar a diversidade e estrutura genética de 42 genótipos de feijão-fava coletados em 2016 no Nordeste do Brasil, e comparar aos níveis encontrados em 12 genótipos coletados em 1980, com o intuito de estimar a ocorrência de erosão genética. Além disso foi realizado estudo da riqueza de variedades e a caracterização do produtor e do manejo do feijão-fava. Os índices de diversidade totais foram obtidos a partir da análise não hierárquica dos genótipos analisados de feijão-fava. Para a estimativa da erosão genética foram realizadas comparações entre os índices de diversidade dos grupos temporais 2016 e 1980, totalizando 54 genótipos, além do índice de Garza-Williamson e o software Bottleneck. A riqueza de variedades tradicionais e caracterização dos agricultores e do manejo utilizado foram obtidas por meio da realização de entrevistas semiestruturadas. A análise de estrutura genética realizada mostrou que os 42 genótipos de 2016 formaram dois grupos ($k=2$). Os valores de heterozigosidade observada (H_o) foram inferiores aos da heterozigosidade esperada (H_e) para a maioria dos genótipos, indicando deficiência de heterozigotos com relação ao Equilíbrio de Hardy-Weinberg. A H_e variou de 0,144 a 0,47, evidenciado a existência de ampla diversidade genética em feijão-fava cultivado no Brasil. Os valores do índice Garza-Williamson foram abaixo de 0,68, para os genótipos coletados em 1980 e 2016, indicando que os genótipos pertencentes a esses grupos podem ter sofrido um gargalo genético recente. Entretanto, quando se fez a comparação de entre os valores de H_e de 1980 e 2016 pôde-se observar um aumento nos níveis de diversidade genética do período de 2016 com relação a 1980, o que pode ser um indicativo da recuperação do referido gargalo. As análises realizadas no software Bottleneck, sugeriram a ocorrência de gargalo nos genótipos coletados em 2016, conforme o modelo mutacional IAM (*Infinite Allele Model*). Esses resultados corroboram com o que foi observado pelos agricultores, que no passado cultivavam uma maior variedade de feijão-fava, mas que, devido à preferência do mercado, atualmente cultivam apenas uma ou no máximo três variedades. Estes resultados servirão de base para futuros programas de melhoramento genético da espécie no mundo, mas principalmente no Brasil, tendo em vista que no país ainda não existem genótipos melhorados que atendam a demanda dos produtores.

Palavras-chave: Agricultura tradicional, marcadores microssatélites, perda de diversidade, recursos genéticos, etnoagronomia.

ABSTRACT

Lima bean (*Phaseolus lunatus*) represents an important source of vegetable protein, being one of the most used legumes to feed the population of the Northeast region of Brazil, with a strong social and economic relevance. In Brazil, because it is a zone of convergence between domestication centers, there is a great diversity. Despite this, due to market pressures, homogenization of crops and changes in agricultural practices have been observed. Scenarios like this can lead to events reducing the genetic diversity of the species in the country. However, few studies are carried out with the aim of evaluating and monitoring the levels of genetic diversity of the lima bean in Brazil. The objective of this work was to characterize the genetic diversity and structure of 42 lima bean genotypes collected in 2016 in the northeast of Brazil, and to compare the levels found in 12 genotypes collected in 1980 in order to estimate the occurrence of genetic erosion. In addition, a study of the richness of varieties and the characterization of the producer and the management of the lima bean were carried out. The total diversity indexes were obtained from the non-hierarchical analysis of the analyzed genotypes of fava beans. For the estimation of genetic erosion, comparisons were made between the diversity indexes of the 2016 and 1980 temporal groups, totaling 54 genotypes, in addition to the Garza-Williamson index and the Bottleneck software. The richness of traditional varieties and characterization of the farmers and the management used were obtained by means of semi-structured interviews. The Genetic Structure analysis performed showed that the 42 genotypes of 2016 formed two groups ($k = 2$). The values of observed heterozygosity (H_o) were lower than the expected heterozygosity (H_e) for most genotypes, indicating heterozygous deficiency with respect to Hardy-Weinberg equilibrium. H_e varied from 0,144 to 0,47, evidencing the existence of a wide genetic diversity in beans cultivated in Brazil. Garza-Williamson index values were below 0,68 for genotypes collected in 1980 and 2016, indicating that the genotypes belonging to these groups may have suffered a recent genetic bottleneck. However, when comparing the values of H_e from 1980 to 2016, an increase in the levels of genetic diversity of the period of 2016 with respect to 1980 could be observed, which may be indicative of the recovery of said bottleneck. The analyzes carried out in the Bottleneck software suggested the occurrence of a bottleneck in the genotypes collected in 2016, according to the mutational model (IAM) (Infinite Allele Model). These results corroborate what was observed by farmers, who in the past grew a greater variety of bean but which, because of market preference, currently cultivate only one or at most three varieties. These results will serve as a basis for future programs of genetic improvement of the species in the world, but mainly in Brazil, since in the country there are still no improved genotypes that meet the demand of the producers.

Key words: Traditional agriculture, microsatellite markers, loss of diversity, genetic resources, ethnoagronomy

1 INTRODUÇÃO GERAL

O feijão-fava é uma leguminosa amplamente distribuída nas Américas, onde é possível encontrar zonas de domesticação que vão do México a Argentina (DEBOUCK, 2008). Serrano-Serrano et al. (2010), verificaram que o conjunto gênico do feijão-fava silvestre é estruturado em três *pool*s genéticos, no qual é possível identificar o *pool* genético Mesoamericano I (MI) que ocorre no centro-oeste do México; o *pool* genético Mesoamericano II (MII) é encontrado no México ao Sul e Leste do Istmo de Tehuantepec, no Peru, Bolívia e Argentina; e o *pool* genético andino (AI) que é encontrado no Equador e no Peru. Entretanto, Chacón-Sánchez; Martínez-Castillo (2017), identificaram outro possível centro de domesticação do feijão-fava nas américas, o *pool* genético andino (AII) na Colômbia Central.

O Brasil, devido a posição geográfica em relação aos centros de domesticação já conhecidos, pode ser considerado uma zona de convergência entre os diferentes centros de domesticação, que representam importantes fontes primárias de genes para o melhoramento genético do *Phaseolus lunatus* L. (ANDUEZA-NOH et al., 2016). Demonstrando a importância dos genótipos de feijão-fava existentes no Brasil para sua conservação e desenvolvimento agrícola. No entanto, são poucos os trabalhos que visam avaliar os níveis de diversidade genética atualmente existente no país, e ainda são inexistentes estudos do processo de erosão genética da espécie.

Para estimar a diversidade genética de uma espécie pode-se utilizar diferentes marcas para identificar polimorfismos: como marcadores morfológicos e moleculares. Os marcadores moleculares são considerados mais eficientes uma vez que é possível detectar um alto nível de polimorfismos entre os genótipos analisados. Os microssatélites são indicados para estudos de diversidade genética, pois são codominantes e possuem alto poder discriminatório, devido a sua natureza multialélica, além de serem abundantes no genoma e facilmente detectados em sistemas automatizados, como eletroforese capilar (RAFALSKI; TINGEY, 1993).

A partir do monitoramento da diversidade genética é possível avaliar se um grupo de genótipos de uma espécie em um dado local está sofrendo a diminuição de sua variabilidade genética. Este processo pode ser chamado de erosão genética e é conceituado como a perda ou redução da riqueza alélica

entre e dentro de populações (JARVIS et al., 2000; MAXTED; GUARINO, 2006). Em espécies cultivadas como o feijão-fava, o processo de erosão genética, pode estar intimamente relacionado às mudanças nos hábitos dos agricultores: como alterações no manejo das atividades agrícolas; pressões econômicas e sociais decorrentes do mercado e perda de conhecimento tradicional associado a espécie (FAO, 1996).

Portanto, o papel dos agricultores tradicionais como “guardiões da agrobiodiversidade local e do conhecimento associado” é de grande importância para a preservação da diversidade genética de uma espécie, já que realizam a conservação de genótipos por meio do seu constante cultivo. A redução da riqueza de genótipos locais é preocupante, visto que algumas plantas podem apresentar alelos raros (aparecem em baixa frequência na população) que podem ser perdidos pelo processo de erosão genética (UPADHYAY; STHAPIT, 1995; FRIIS-HANSEN, 1999). Portanto, esse processo pode ocasionar a redução da capacidade dos genótipos de uma espécie se adaptarem a mudanças ambientais e pressões bióticas, aumentando a possibilidade de extinção de variedades locais (BAKOUMÉ, 2016; BEARDMORE, 1983).

O feijão-fava é uma das mais importantes espécies do gênero *Phaseolus* que apresentam considerável importância alimentar em diversos países no mundo. No Brasil a região Nordeste se destaca com relação ao consumo e produção dessa espécie, sendo apontada como a região do país em que o feijão-fava apresenta maior relevância socioeconômica (IBGE, 2017). Apesar da importância do grão para a alimentação, o cultivo do feijão-fava é realizado principalmente de forma tradicional, isto é, com reduzido emprego de tecnologia no manejo agrícola e sem utilização de variedades melhoradas (LOPES et al., 2010).

Dessa forma, a maior parte do germoplasma de feijão-fava cultivado no Brasil é composto principalmente por variedades crioulas, também conhecidas como variedades tradicionais, variedades locais ou *landraces* (BEVILAQUA et al., 2014). As variedades tradicionais são localmente adaptadas, já que possuem caracteres que foram pré-selecionados empiricamente, ou seja, sem conhecimento prévio de genética, apenas a partir da experiência prática dos agricultores ao longo dos anos, portanto devido as suas características de

adaptação local são fontes de genes úteis ao melhoramento genético (HOLUBEC; VYMYSLICKÝ; F. PAPRŠTEIN, 2010).

A partir do exposto é possível compreender a importância do monitoramento da diversidade genética e o estudo do etnoconhecimento associado, para a conservação dos recursos genéticos de feijão-fava e para o futuro da sustentabilidade alimentar das comunidades agrícolas da região Nordeste do Brasil, sendo componente essencial da dieta da população nordestina e importante fonte de proteína vegetal.

Neste sentido, surgiram alguns questionamentos: É possível encontrar elevados níveis de diversidade e estruturação genética entre e dentro de genótipos cultivados de feijão-fava no Brasil? Os genótipos de feijão-fava cultivados atualmente estão sofrendo ou passaram por algum processo de erosão genética? As práticas agrícolas adotadas pelos agricultores tradicionais que cultivam o feijão-fava influenciam na riqueza de variedades tradicionais?

Desse modo, com base no que foi relatado, este trabalho foi dividido em três capítulos com o objetivo de responder os questionamentos citados:

- Capítulo 1: Diversidade e estrutura genética do feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.) no Nordeste do Brasil;
- Capítulo 2: Erosão genética em genótipos de feijão-fava (*Phaseolus lunatus*) procedentes do Nordeste do Brasil;
- Capítulo 3: Riqueza de variedades crioulas e o conhecimento tradicional associado ao feijão-fava no Nordeste brasileiro.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Gênero *Phaseolus* (Classificação Botânica)

O Gênero *Phaseolus* pode ser classificado como pertencente ao Reino vegetal, Ramo Embryophytae syphonogamae, Sub-ramo Angiospermae, Classe Dicotyledonae, Subclasse Archichlamydeae, Ordem Rosales, Família Fabaceae, Subfamília Papilionoideae, Tribo Phaseoleae e Subtribo Phaseolineae, onde finalmente encontra-se o Gênero *Phaseolus* (SANTOS; GAVILANES, 2006; VIEIRA et al., 2006).

A origem e diversificação primária do gênero *Phaseolus* ocorreu inicialmente nas Américas, mais precisamente na América Central, mas o local exato ainda é motivo de discussões entre diferentes autores (BAUDOIN et al., 2004; GEPTS; DEBOUCK, 1991; MACKIE, 1943; SOUSA; DELGADO-SALINAS, 1993). As espécies desse gênero estão amplamente distribuídas pelo mundo (CIAT, 1993), sendo cultivadas desde os trópicos e subtropicais até as zonas temperadas dos hemisférios Norte e Sul (CRONQUIST, 1988).

Dentre as 70 espécies identificadas que o gênero *Phaseolus* possui, apenas cinco foram domesticadas e são cultivadas pelo homem: *P. vulgaris* L., *P. lunatus* L., *P. coccineus* L., *P. acutifolius* A. Gray e *P. polyanthus* Greenman (FREYTAG; DEBOUCK, 2002). As espécies *P. vulgaris* L. e *P. lunatus* são consideradas as mais importantes do gênero do ponto de vista econômico (RAMALHO et al., 1993), sendo que destas o *P. lunatus*, destaca-se como a segunda espécie mais cultivada e consumida do gênero (DELGADO-SALINAS et al., 1999; MAQUET; VEKEMANS; BAUDOIN, 1999; SINGH, 1992).

2.2 Centro de origem e distribuição geográfica do *Phaseolus lunatus* L.

A espécie *Phaseolus lunatus* L. está amplamente dispersa pelo mundo, podendo ser encontrada desde Norte dos Estados Unidos ao Sul do Brasil (GUTIÉRREZ-SALGADO et al., 1995; MAQUET et al., 1999). No entanto, pela dificuldade de encontrar germoplasma silvestre em algumas áreas onde o feijão-fava é distribuído, dificulta a determinação dos centros de domesticação da espécie (ANDRUEZA-NOH et al., 2013).

As primeiras hipóteses criadas para explicar a origem do feijão-fava (*P. lunatus* L.) apontam que ele é originário da América Central, como o país de

origem. Segundo Mackie (1943), a dispersão do feijão-fava teve início a partir de três principais rotas, gerando três possíveis ramificações, provavelmente seguindo a rota do comércio.

Conforme descrito por Mackie (1943), a Ramificação intitulada Hopi, foi direcionada ao Norte, para regiões de clima frio, chegando aos Estados Unidos. As sementes dessa ramificação são definidas como “Sieva” e apresentam características intrínsecas a essa ramificação, são de tamanho médio e achatadas. A rota que seguiu para o leste, chegando a América do Sul, recebeu a denominação de Ramificação Caribe. As sementes da Ramificação Caribe são pequenas e globosas, definidas como grupo “Batata”. Por fim, a terceira rota chamada de Ramificação Inca, dispersou-se para o sul, para a América Central, as sementes dessa ramificação são definidas como “Lima grande”.

Estudos morfológicos (DEBOUCK et al., 1987), bioquímicos (GUTIÉRREZ-SALGADO et al., 1995; LIOI; GALAZO, 2002) e por meio de técnicas moleculares (ANDRUEZA-NOH et al., 2013; MOTTA-ALDANA et al., 2010), apontam a existência de dois grandes grupos que podem ser identificados como possíveis centros de domesticação para o feijão-fava: O Mesoamericano (MA), é compreendido por genótipos que foram coletados do Centro-Oeste do México a Honduras e o centro Andino (AG), genótipos que estavam localizados no Equador e Norte do Peru (GUTIÉRREZ-SALGADO, et al., 1995; ANDRUEZA-NOH et al., 2013; NIENHUIS et al., 1995; SERRANO-SERRANO et al., 2010).

Os dois centros de domesticação representam dois conjuntos gênicos, ambos contendo as formas silvestre (*P. lunatus* var. *silvester*) e cultivada (*P. lunatus* var. *lunatus*): o conjunto gênico Andino é representado pelo grupo “Lima grande”, enquanto o Mesoamericano, é representado pelos grupo “Sieva” e “Batata” (ANDRUEZA-NOH et al., 2013; MOTTA-ALDANA et al., 2010).

Contudo, estudos baseados em regiões não codificantes do DNA de cloroplasto (cpDNA) e polimorfismos de espaçador interno transcrito (ITS) do DNA ribossomal nuclear, indicam que a organização da diversidade genética do conjunto gênico Mesoamericano é mais complexa (MARTÍNEZ-CASTILLO et al., 2014). Análises de agrupamento realizadas por Serrano-Serrano et al. (2010) evidenciaram que acessos que se agruparam no grupo (AI), *pool* gênico andino, foram encontrados principalmente presentes no Equador e norte do Peru, em altitudes que variam entre 470 e 1810 metros acima do nível do mar (SERRANO-

SERRANO et al., 2010). Além disso outros estudos propõem uma nova subdivisão do conjunto gênico Mesoamericano em dois grupos principais: Mesoamericano I e II (ou MI e MII, conforme a terminologia sugerida por Serrano-Serrano et al., 2010) (ANDUEZA-NOH et al, 2013; 2015; MARTÍNEZ-CASTILLO et al., 2014; SERRANO-SERRANO et al., 2010, 2012).

As análises de agrupamento realizadas por Serrano-Serrano et al. (2010; 2012) apontam que os acessos que se agruparam como pertencentes ao *pool* gênico MI, são encontrados principalmente a Oeste e Noroeste do Istmo de Tehuantepec. Os acessos deste grupo ocorrem em elevações entre 20 e 1750 metros acima do nível do mar. Já o grupo MII, é mais amplamente distribuído e ocorre no México, principalmente na área a Leste e Sudeste do Istmo de Tehuantepec, América Central, Caribe (Cuba) e América do Sul (Colômbia, sul do Peru e Argentina). Os acessos desse grupo são encontrados em altitudes entre 3 e 1.680 metros de elevação.

Um trabalho utilizando a técnica de Genotipagem por Sequenciamento (GBS), os autores identificaram outro possível centro de domesticação do feijão-fava nas américas, o *pool* genético andino (All) na Colômbia Central (CHACÓN-SÁNCHEZ; MARTÍNEZ-CASTILLO, 2017).

2.3 Cultura do feijão-fava: aspectos gerais

A espécie apresenta um sistema de reprodução que predomina a autogamia. A autofecundação é favorecida pela sincronização entre a maturação dos grãos de pólen e o estigma e pela proximidade desses órgãos reprodutores dentro da flor (WEBSTER; LYNCH; TUCKER, 1979). Contudo, o nível de cruzamentos naturais pode variar de 10 a 48% (BAUDOIN et al., 1998; PENHA et al., 2017).

Segundo Zimmermann; Teixeira (1996), a espécie pode ser identificada por apresentar germinação epígea, folhas trifolioladas, de forma redonda a lanceolada; e de coloração verde escura persistente (inclusive após a maturação das vagens), quando comparada a outras espécies do gênero *Phaseolus*. Abaixo das flores, nos verticilos florais, observa-se a presença de bractéolas pequenas e pontiagudas (VIEIRA, 1992a) (Figura 1). Já as vagens possuem geralmente a forma oblonga e recurvada, são achatadas, pontiagudas e coriáceas, com comprimento médio de vagem de 70 mm. O número de sementes por vagem

varia de duas a quatro (GUIMARÃES et al., 2007; NETO et al., 2015; SANTOS et al., 2002; VIEIRA, 1992a). Segundo Vander Measen; Sadikin (1989), a germinação e emergência das plântulas de feijão-fava em zonas de menor fotoperíodo, ocorrem de 4 a 10 dias após a semeadura, a floração de 35 a 70 e a maturação das vagens de 80 a 120 dias após a semeadura.



Figura 1. a) Germinação da semente de feijão-fava; b) Planta de feijão-fava evidenciando as folhas trifoliadas e vagens; c) vagens coriáceas do feijão-fava.

O feijão-fava apresenta essencialmente dois tipos de hábitos de crescimento: o indeterminado, predominante no Brasil, que possui o desenvolvimento da gema terminal em uma guia; e o determinado que possui o desenvolvimento completo da gema terminal em uma inflorescência, tipo raro no Brasil, tendo sido identificado e coletado dois genótipos no estado da Paraíba. A inflorescência do tipo racemo axilar, com muitas flores, e por vezes apresenta tamanhos diferentes (BAUDOIN, 2006; BEYRA; ARTILES, 2004; SANTOS et al. 2002).

É uma planta de dias curtos e apresenta genótipos que diferem quanto ao ciclo, podendo ser encontrado dentro da espécie plantas anuais, bianuais ou perenes de curta duração, sendo que quando cultivadas, geralmente são tratadas como anuais (VIEIRA, 1992b). Os genótipos anuais via de regra são determinados e aparecem de forma arbusto, com inflorescências terminais e axilares, outra característica marcante é a presença de raízes finas (BAUDOIN,

2006). Já os perenes, observa-se na maioria das vezes um hábito de crescimento indeterminado, com raízes vultosas e carnudas (IBEAUCHI, 2007). Na região Nordeste do Brasil, os tipos indeterminados são cultivados e anuais e com valor comercial.

As sementes do feijão-fava são, na maioria das vezes, redondas e em forma de rins, além de apresentarem grande variação de cores e tamanhos. Vieira (1992b), afirma que uma característica marcante dessa espécie e que a distingue de outros feijões, são linhas que irradiam do hilo para a região dorsal das sementes (VIEIRA, 1992b).

2.4 Importância socioeconômica do feijão-fava

O feijão-fava (*P. lunatus* L.), recebe diferentes denominações por todo o mundo. Nos Estados Unidos é chamado, por *Large Lima bean*, *Lima bean*, *Large white bean*, *Butter bean*, *Burma bean*, *Rangoon bean*, *Duffin bean*, *Madagascar bean*; na Itália é conhecido por *Fagiolo del Capo*, *Fagiolo detto di Lima*, *Fagiolo di Lima*; na Argentina por, *Frijol de Lima*, *Frijol de luna*, *Frijol lima*, *Frijol manteca*; na Espanha, por *Judión*, *Judía de Lima*, *Poroto de Manteca*, em alguns países da África Oriental por, *Abangbang*, *Chuku*; da África Ocidental por *Kapala* e *Ukpa* e da África Central, por *Feijão Espadinho* e *Chitanga* (BRINK; BELAY, 2006; EZUEH, 1997; GRIN, 2016; WINCH, 2006).

No Brasil, o feijão-fava é popularmente conhecido como feijão-fava ou feijão-de-lima, fava-de-lima, fava-belém, feijão-espadinho, feijão madagascar, feijão favona ou simplesmente fava (GRIN, 2016, VIEIRA, 1992b). É uma das espécies do gênero *Phaseolus* que mais se destaca por sua importância econômica (BAUDOIN, 1998; DELGADO-SALINAS et al., 1999). O feijão-fava, possui ampla adaptação a diferentes regiões do mundo, sendo cultivado na América do Norte, América do Sul, Europa, Leste e Oeste da África e Sudeste da Ásia (BAUDOIN, 1998).

No contexto mundial, os Estados Unidos destacam-se como um dos maiores produtores de feijão-fava do mundo. A sua produção e comercialização é voltada sobretudo para grãos verdes, e em conserva (grãos enlatados, congelados e empacotados), conseguindo-se agregar valor ao produto (BITENCOURT; SILVA, 2010; VIEIRA 1992a).

No Brasil, o feijão-fava é preferencialmente cultivado na região Nordeste, onde é amplamente consumido e, portanto, possui maior importância econômica (ALVES et al., 2014; AZEVEDO; FRANCO; ARAÚJO, 2003; VIEIRA, 1992a). Nessa região o feijão-fava é cultivado em quase todos os estados com exceção da Bahia. Segundo dados do IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística) (2014), a soma da quantidade produzida de feijão-fava pelos estados da região Nordeste é de aproximadamente 7.416 toneladas, e uma área plantada de cerca de 23.697 hectares, que representa 96,56% e 96,13% da produção e área plantada nacional respectivamente, confirmando a sua importância nessa região.

Segundo levantamentos realizados pelo IBGE, o *ranking* dos estados maiores produtores de feijão-fava mudou de 2009 para 2014. O levantamento agrícola realizado em 2009 apontava o Estado da Paraíba como o maior produtor (8.758 toneladas), seguido por Ceará (2.457 toneladas), Rio Grande do Norte (2.433 toneladas) e Pernambuco (1.742 toneladas), no entanto, em 2014 o estado que mais se destacou como produtor foi o Ceará (3.116 toneladas), seguido por Paraíba (2.181 toneladas), Pernambuco (787 toneladas) e Piauí (616 toneladas). A considerável redução da produção de feijão-fava que se observou no Estado da Paraíba pode estar correlacionada com um prolongado período de seca que assolou a região nesse período.

Já em 2017 houve um incremento considerável na produção do feijão-fava em todos os estados brasileiros, totalizando uma produção de 18.883 toneladas na região Nordeste e 21.004 toneladas em todo o Brasil. Esse incremento na produção pode estar atrelado em grande parte ao aumento no preço de mercado do quilo de grão do feijão-fava. Assim, segundo o Censo Agropecuário realizado pelo IBGE 2017, os cinco estados que mais produziram o feijão-fava foram Ceará (7.095 toneladas), Pernambuco (3.249 toneladas), Paraíba (3.008 toneladas), Maranhão (2.333 toneladas), e Goiás (1.281 toneladas) que foi o único estado fora da região Nordeste que mais se destacou na produção desta cultura.

O Piauí que em levantamento realizado em 2016 era o quinto colocado na listagem dos estados mais produtores de feijão-fava do Brasil, passou a sétimo segundo o último levantamento de 2017 com uma produção de 852 toneladas

ficando atrás do Rio Grande do Norte (1.177 toneladas). (IBGE, 2014, 2016, 2017).

A cultura do feijão-fava assume papel importante na região Nordeste, por representar uma fonte de renda e proteína vegetal de qualidade para a população, além de reduzir a dependência do feijão-comum (*Phaseolus vulgaris*) e do feijão-caupi (*Vigna unguiculata*) (CARVALHO, 2012). O feijão-fava é produzido basicamente por pequenos produtores, fato que agrega maior importância a cultura, tendo em vista que a região Nordeste é a mais pobre do Brasil e onde os trabalhadores rurais possuem menor renda por pessoa e maior carência nutricional, dessa forma a cultura passa a ter maior valor, em razão da segurança alimentar e nutricional nas comunidades rurais.

Outra característica que destaca o mérito da cultura, é sua capacidade de adaptação a diferentes condições edafoclimáticas, sendo considerada por muitos estudiosos uma cultura de ampla adaptação (AZEVEDO; FRANCO; ARAÚJO, 2003; GUIMARÃES, 2007; OLIVEIRA; SIMEÃO; GOMES, 2014). De acordo com SULLIVAN; DEVENPORT (1993), o feijão-fava é uma espécie bastante tolerante a seca, e devido sua grande diversidade genética, possui genótipos com boa adaptação as condições adversas do semiárido brasileiro, o que possibilita uma prolongada colheita dos grãos durante o período mais seco, adequando-se bem ao sistema de agricultura familiar (GUIMARÃES, 2005; MELO, 2011).

Assim como as demais leguminosas, o feijão-fava é rico em proteína, e desempenha um valioso papel na dieta de populações por todo o mundo. Suas sementes possuem um teor de proteína que pode variar de 24,4 a 26,70%, sendo inferior ao encontrado em feijão-caupi (28,94%) e superior aos valores encontrados no feijão-comum tipo carioca (23,37%), o que exalta seu mérito como fonte de proteína de origem vegetal para famílias rurais (AZEVEDO; FRANCO; ARAÚJO, 2003; BATISTUTI; FREITAS, 1995; EZEAGU; IBEGBU, 2010; MESSOU et al., 2015; SEIDU et al., 2015; SILVA et al., 2002).

Não obstante a importância econômica e nutricional da cultura no Brasil, o cultivo do feijão-fava possui limitações que são atribuídas ao seu paladar amargo (devido ao alto teor de ácido cianídrico - HCN), ao elevado tempo de cocção do grão seco e a uma maior tradição de consumo dos feijões comum e feijão-caupi (DOMINGUEZ et al., 2002; VIEIRA, 1992a).

Além disso, pesa sobre o cultivo do feijão-fava a ausência de cultivares recomendadas para as condições climáticas das regiões produtoras no Brasil, além da baixa produtividade dos genótipos cultivados. Vieira (1992a) afirma que a baixa produtividade pode ser atribuída as condições de cultivo não satisfatórias, ao baixo nível tecnológico empregado em seu cultivo, uma vez que grande parte da produção é oriunda pequenos produtores, que geralmente fazem limitado uso de tecnologia, além da falta de variedades melhoradas (GUIMARÃES et al., 2007; LEMOS et al., 2004; SANTOS et al., 2002)

Esses fatores tornam o feijão-fava uma cultura essencialmente de subsistência no Brasil, sendo comercializado apenas o excedente da produção, principalmente em feiras livres e mercados regionais (ALVES et al., 2008; FRAZÃO et al., 2004). Esse fato demonstra que há muito a ser estudado até que essa espécie atinja um patamar de cultura economicamente representativa no Brasil. Neste caso, a geração de tecnologias para a cultura do feijão-fava implicará no incremento da área plantada, da produção, produtividade e qualidade do produto final, e na geração de emprego e renda para os produtores rurais. Isto terá como principal impacto, na melhoria da qualidade de vida dos agricultores, e tornará possível a redução do êxodo rural (NETO et al., 2015).

2.5 Diversidade genética do feijão-fava

A despeito do Brasil ainda não ser considerado um dos possíveis centro de origem do feijão-fava, apresenta grande variabilidade genética da espécie. Conforme resultados encontrados por Vargas et al. (2003), Santos et al. (2010) e Silva et al. (2015), no Brasil existe uma grande diversidade da cultura quanto à forma, cor das sementes, o comprimento, largura e número de vagens por planta. Esses caracteres, muitas vezes, são utilizados para explicar a ampla diversidade genética.

Além das características morfológicas, também são usadas técnicas moleculares para estudos de diversidade genética. Os marcadores RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) foram muito empregados e segundo FOFANA et al. (1997), eles se mostraram altamente polimórficos, e úteis para analisar a diversidade genética em diferentes níveis de organização do conjunto gênico total do feijão-fava.

Entretanto estudos com marcadores microssatélites (SSR - Simple Sequence Repeat) tem sido amplamente empregado para determinar a estrutura genética de muitas espécies de plantas, pois são, marcadores codominantes, altamente polimórficos, e amplamente distribuídos pelo genoma (KURODA et al., 2006). Para a espécie *Phaseolus lunatus* os marcadores SSR tem se mostrado eficientes para diferenciar grande número de populações e seus padrões de agrupamento, fluxo gênico, análises filogenéticas, assim como pesquisas sobre a área de domesticação e dispersão da espécie (MARTÍNEZ-CASTILLO et al., 2006; 2014; FÉLIX; COELHO-COELHO; MARTÍNEZ-CASTILLO, 2014; PENHA et al., 2017; RUIZ-GIL, et al., 2016).

Trabalhos realizados no México através de marcadores microssatélites reportam elevada diversidade genética do feijão-fava no país. Martínez-Castillo et al. (2006), mostraram alta diversidade genética para populações de *Phaseolus lunatus* silvestres (Heterozigosidade esperada - HE = 0,69) na Península de Yucatán e posteriormente em todo o país (HE = 0,61) Martínez-Castillo et al. (2014). A diversidade genética pode variar dependendo de diversos fatores, o *pool* gênico estudado, a região de estudo ou mesmo do tamanho das populações amostradas (MARTÍNEZ-CASTILLO et al., 2012).

Também é possível perceber o efeito da perda de diversidade genética da espécie, especialmente em locais de cultivo tradicionais, como é o caso do sistema de cultivo em milpas realizado por comunidades Mayas, localizadas na Península de Yucatán no México (Martínez-Castillo et al. 2004; 2012). Esses autores mostraram que houve um processo de erosão genética, em um período de 28 anos (1979 -2007), que resultou na mudança da composição alélica de variedades cultivadas nessa região. Também observaram redução nos valores dos estimadores de diversidade genética entre as variedades coletadas em 1979 quando comparado com as coletadas em 2007. Os autores atribuíram a perda de diversidade a fatores associados à intensificação agrícola, a introdução de variedades melhoradas, a preferências de mercado externo e também devido a uma série de fatores ambientais, socioeconômicos e culturais (MARTÍNEZ-CASTILLO et al., 2012).

No Brasil, é possível que caso semelhante a esse esteja ocorrendo, entretanto, pouco se sabe sobre o processo de perda de diversidade genética

dessa cultura, pois até o presente, não existem trabalhos voltados a estudar esse tema para a cultura do feijão-fava.

2.6 Erosão genética

A conservação através do uso dos genótipos por pequenos agricultores ainda é tratada em um nível bastante teórico, e poucas estratégias práticas são realizadas para que este tipo de conservação seja realizada de forma mais constante e consolidada. Uma vez que o desenvolvimento econômico de uma região frequentemente provoca impactos negativos na diversidade agrícola e, portanto, na conservação (BERENTSEN, et al., 2007; HOLUBEC; VYMYSLICKÝ; PAPERŠTEIN, 2010).

A perda ou decréscimo da diversidade genética de populações de uma mesma espécie ao longo do tempo pode ser conceituada como erosão genética (JARVIS et al., 2000). Maxted; Guarino (2006) sugeriram que a erosão genética também pode ser definida como uma "redução permanente da riqueza ou uniformidade de alelos locais e/ou únicos e alelos comuns ou a perda da combinação de alelos ao longo do tempo em uma área definida" (BEARDMORE, 1983).

Esse fenômeno na maioria das vezes resulta de alterações ocasionadas por atividades agrícolas, econômicas e sociais e mudanças edafoclimáticas bruscas (FAO, 1996). A perda de alelos também é agravada e acelerado de acordo com a fragmentação do habitat. Perda de diversidade genética pode ocasionar a redução da capacidade de população para se adaptar a mudanças ambientais, aumentando assim a possibilidade de extinção de alelos que condicionam a adaptação a uma dada condição local e até o desaparecimento de variedades locais (BAKOUMÉ, 2016; BEARDMORE, 1983).

Estudos de investigação da redução da diversidade genética da cultura do feijão-fava tem sido realizado principalmente no México, local que é considerado um dos centros de diversidade da espécie (MARTÍNEZ-CASTILLO et al., 2004; 2008; 2011). Segundo os autores, os marcadores microssatélites têm se mostrado úteis em estudos de erosão genética, estrutura e diversidade em plantas cultivadas como o feijão-fava. Martínez-Castillo et al. (2011), analisaram a deriva genética entre os acessos coletados em 1979 em Nohalal, México, e compararam com acessos coletados em 2007, os autores concluíram

que ocorreu um processo de perda de variabilidade genética, com redução nos estimadores de diversidade genética.

A perda de genótipos gera a erosão ao nível de alelos, que são responsáveis pela variação fenotípica (UPADHYAY; STHAPIT, 1995; FRIIS-HANSEN, 1999). Por esta razão é importante que os agricultores sejam conscientizados da importância do seu papel como “guardiões da agrobiodiversidade local”, e não deixem de cultivar suas variedades locais. Portanto, também é possível entender como está acontecendo o processo de perda de diversidade genética por meio do comportamento dos agricultores familiares que cultivam o feijão-fava.

2.7. Importância das coleções de germoplasma e da conservação *on farm* para a manutenção da diversidade genética

A conservação de recursos genéticos vegetais visa manter a maior diversidade genética possível. A perda de diversidade pode reduzir a capacidade adaptativa de uma espécie a mudanças periódicas ou emergenciais, como por exemplo variações edafoclimáticas, e/ou o surgimento de doenças. Isso ocorre devido à falta de variabilidade genética que poderia suportar tais variações ambientais.

Para evitar a perda ou redução da diversidade genética, estratégias de conservação *in situ* e *ex situ* podem ser adotadas (BGCI, 2012; OTA, 1987). A estratégia *in situ* pode ser definida como a manutenção de indivíduos silvestres pertencentes a populações de uma dada espécie no ambiente natural onde estes evoluem. Esse sistema de conservação é considerado dinâmico, pois facilita a evolução contínua de um dado *pool* gênico da cultura (BRUSH, 1995). O planejamento e a gestão da estratégia *in situ* requer escolha de populações, gerenciamento e monitoramento contínuo destas e compreensão de sua dinâmica, além da delimitação dos locais de preservação (IWANAGA, 1996).

Trabalhos como o de Baudoin (1998) e Martínez-Castillo, et al. (2008), indicam a importância do estudo das espécies em seu centro de diversidade, para o gerenciamento de estratégias de conservação da espécie. Pois por meio desses trabalhos é possível estimar a diversidade genética da espécie e determinar quais são os alelos locais mais abundantes e alelos raros que compõem o *pool* gênico de uma dada área.

A sistema de conservação *in situ* auxilia a manutenção da integridade genética e o potencial de adaptação das populações e também complementa a conservação *ex situ* evitando a amostragem de campo inadequada de ecótipos para armazenamento em bancos de germoplasma. Ambas requerem conhecimento ecogeográfico e genético da espécie alvo (BAUDOIN, 2004).

A conservação *ex situ* é necessária principalmente nos casos em que a *in situ* não pode ser garantida, por exemplo devido à destruição do habitat ou à mudança do uso do solo, as coleções *ex situ* em jardins botânicos e bancos de sementes podem ser o método apropriado para garantir a sobrevivência das espécies e manter a variação genética que pode ser utilizada como fonte para reintrodução e restauração (BGCI, 2012).

A diversidade de espécies utilizadas pelos agricultores tradicionais, ou biodiversidade agrícola, é considerada como o resultado da interação contínua entre pessoas com o meio ambiente, no qual coevoluem naturalmente (NORGAARD; SIKOR, 1997). Este tipo de interação vem recebendo status de conservação, podendo ser chamada de *on farm*. Esta é definida como a manutenção sustentável das variedades locais e cultivares obsoletas, (linhas, populações) por serem cultivadas em conformidade com as condições ambientais. A conservação *on farm* é dinâmica, e possibilita o desenvolvimento e a manutenção evolutiva de genótipos sob a influência do meio ambiente regional e das tecnologias utilizadas (HOLUBEC; VYMYSLICKÝ; F. PAPERŠTEIN, 2010).

O principal motivo para manter os processos evolutivos das espécies vegetais é a contínua adaptação local, o que pode contribuir para manter a capacidade dos sistemas agrícolas de se adaptar às mudanças do meio" (BELLON, 2009). O reconhecimento da importância da diversidade de alelos para a adaptação de espécies agrícolas a mudanças ambientais gerou uma preocupação no meio científico sobre o impacto do processo de erosão genética sobre as espécies cultivadas.

Essa preocupação ganha força quando se considera a vulnerabilidade genética dessas espécies cultivadas frente às recentes mudanças climáticas, como o aumento das temperaturas, a mudança dos padrões de chuva e o aumento da frequência de eventos extremos, como secas, tempestades, inundações e extremos climáticos decorrentes do aquecimento global. Portanto

é necessário considerar a importância de áreas onde existe ampla agrobiodiversidade mantida por agricultores que detêm grande conhecimento associado (conhecimento humano e práticas agrícolas que moldaram e mantiveram essa diversidade por gerações) (BELLON; PHAM; JACKSON, 1997).

Esses fatores quando considerados representam desafios importantes para a sustentabilidade agrícolas e alimentar. Uma vez que somado às mudanças ambientais observa-se também a substituição de variedades tradicionais pelas variedades geneticamente uniformes e de alto rendimento, porém com estreita base genética (RICHARDS; RUIVENKAMP, 1997).

O papel dos agricultores tradicionais na conservação de populações de espécies tradicionais é fundamental para a segurança alimentar de toda a população mundial, já que a conservação pelo uso influencia em quais alelos passarão de uma geração para a outra. Sob ponto de vista sócio biológico, a conservação *on farm* promove uma modificação das características que estão sob seleção humana, além de favorecer a diversificação alélica que é influenciada pelo fluxo gênico entre variedades tradicionais de locais vizinhos e a localização onde uma cultura é plantada, as pressões de seleção natural específicas a que está exposta (BELLON, 2014).

2.8 – Importância dos estudos etnobotânicos para a conservação dos recursos genéticos

Apesar de mais frequentes estudos sobre a diversidade genética de espécies cultivadas, o entendimento do manejo e das interações entre agricultores tradicionais, as espécies e os ambientes de cultivo ainda são pouco estudadas (PERONI, 2006). No caso do feijão-fava no Brasil, poucos estudos avaliam como ocorre a conservação *on farm*; a formação dos saberes tradicionais sobre a espécie (BARBOSA; ARRIEL, 2018), e como a perda desses saberes influencia no processo de erosão genética como fatores culturais, as dinâmicas populacionais, as preferências das comunidades locais e o intercâmbio de germoplasma (fluxo gênico) estão influenciando na diversidade de variedades locais.

A compreensão dos fatores relacionados a mudanças socioeconômicos e os agricultores tradicionais é importante para a percepção de como ocorre a

evolução, a ampliação e a redução da variabilidade genética de espécies agrícolas no Brasil e no mundo. Em se tratando de agrobiodiversidade, a redução da diversidade biológica está geralmente acompanhada pela perda de conhecimento ecológico local relacionadas ao cultivo e aos usos das variedades (PERONI, 2006).

Para as populações tradicionais a agricultura tem um papel essencial para a subsistência. Entretanto mudanças no cenário socioeconômico como o desenvolvimento de outras atividades econômicas, a modificação do manejo agrícola, o desinteresse dos jovens, o êxodo e o envelhecimento da população rural podem, a médio e longo prazo, aumentar o risco de perdas de seu patrimônio biológico e cultural, haja vista que os conhecimentos das práticas de cultivo não serão mais reproduzidos (AMOROZO, 2002).

Em comunidades tradicionais, a transmissão de conhecimento geralmente ocorre por meio de situações cotidianas, e geralmente é realizada de forma oral. Por isso, é necessário que haja um contato frequente dos jovens com os velhos detentores do saber tradicional. Em casos onde é impossível a perpetuação dessas informações em decorrência de transformações sociais, econômicas e ambientais, o estudo etnobotânico pode ser uma forma útil para a conversação, por meio de registros, preservando e resgatando o conhecimento popular referente as interações entre a comunidade com os recursos fitogenéticos (AMOROZO, 1996; GANDOLFO, 2010).

A etnociência voltada ao estudo de tecnologias agrícolas e manejo de recursos naturais usados na agricultura é chamada de Etnoagronomia. Cruz et al. (2015) afirmam que esta é uma área da etnobiologia que estuda os saberes agrícolas transmitidos oralmente de uma geração a outra como: calendários agrícolas, instrumentos de trabalho, práticas de conservação da fertilidade do solo, adubos e defensivos naturais, manejo de plantas invasoras, pragas e doenças de espécies cultivadas, assim como o manejo da água, registro de rituais, cerimônias e crenças em torno da produção de variedades tradicionais (CRUZ et al., 2015; PERDOMO MOLINA, 2011).

Os trabalhos etnoagronômicos além de auxiliarem no entendimento das interações dos agricultores com a agrobiodiversidade, também buscam conhecer a lógica de suas ações bem como os processos produtivos ao longo da história. A etnoagronomia também fornece apoio ao melhoramento genético

participativo e a conservação da variabilidade genética, uma vez que ajudam na percepção das necessidades dos agricultores e a partir delas prospectar genes úteis. Além de fornecerem dados que subsidiem a recomendação de técnicas agrícolas que aumentem a produção e a qualidade dos produtos agrícolas sem impactar na redução ou perda de variedades tradicionais (CRUZ et al., 2015).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES A. U. et al. Lima beans production and economic revenue as function of organic and mineral fertilization. **Horticultura Brasileira**, v. 26, n. 2, p. 251-254, 2008.

ALVES, A. U. et al. Emergência de plântulas de fava em função de posições e profundidades de semeadura. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 30, n. 1, p. 33-42, 2014.

AMOROZO, M. C. M. A abordagem etnobotânica na pesquisa de plantas medicinais. In: DI STASI, L. C. (Org.). **Plantas medicinais: arte e ciência um guia de estudo interdisciplinar**. São Paulo: UNESP, 1996, cap. 5, p. 47-58.

AMOROZO, M. C. M. Sistemas agrícolas tradicionais e a conservação de agrobiodiversidade. Modificado de: AMOROZO, M. C. M. Agricultura Tradicional, Espaços de Resistência e o Prazer de Plantar. In: ALBUQUERQUE, U. P. et al (orgs.) **Atualidades em Etnobiologia e Etnoecologia**. Recife: Sociedade Brasileira de Etnobiologia e Etnoecologia, 2002. p. 123-131.

ANDUEZA-NOH, R. H. et al. Multiple domestications of the Mesoamerican gene pool of lima bean (*Phaseolus lunatus* L.): evidence from chloroplast DNA sequences. **Genetic Resources and Crop Evolution**. v. 60, p. 1069–1086, 2013.

ANDUEZA-NOH, R. H.; MARTÍNEZ-CASTILLO, J.; CHACÓN SÁNCHEZ, M. I. Domestication of small-seeded lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) landraces in Mesoamerica: evidence from microsatellite markers. **Genetica**, v. 143, p. 657–669, 2015.

ANDUEZA-NOH, R. H. et al. Distribución geográfica de los parientes silvestres del acervo genético mesoamericano del frijol lima (*Phaseolus lunatus* L.) en México. **Polibotánica**, n.41, p.101-113, 2016.

AZEVEDO, J. N.; FRANCO, L. J. D.; ARAÚJO, R. O. C. **Composição química de sete variedades de feijão-fava**. Comunicado Técnico, Teresina: Embrapa Meio-Norte, p. 4, 2003.

BAKOUMÉ, C. Genetic Diversity, Erosion, and Conservation in Oil Palm (*Elaeis guineensis* Jacq.). In. AHUJA, M. R.; MOHAN JAIN, S. (eds) **Genetic Diversity and Erosion in Plants: Case Histories**, v. 2, p. 1-33, 2016

BATISTUTI, J. P.; FREITAS, S. D. Propriedades de emulsão da farinha e do concentrado proteico de feijão – guandu (*Cajanus flavus* DC) cultivar fava larga. **Alimentação e Nutrição**, São Paulo, v. 6, p. 55-67, 1995.

BAUDOIN, J. P., et al. Development of an *in situ* conservation strategy for wild Lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) populations in the central valley of Costa Rica.

In: OWENS, S. J.; RUDALL, P. J.; (eds) *Reproduction Biology*, **Royal Botanic Garden Press**, England, p. 417-426, 1998.

BAUDOIN, J. P.; et al. *Ecogeography, demography, diversity and conservation of *Phaseolus lunatus* L in the Central Valley of Costa Rica*. **International Plant Genetic Resources Institute**, Rome, Italy, 2004.

BAUDOIN, J. P. *Phaseolus lunatus* L. In: BRINK, M.; BELAY, G. (Editors). **PROTA (Plant Resources of Tropical Africa / Ressources végétales de l'Afrique tropicale)**, Record from Protabase, Wageningen, Netherlands, 2006.

BEARDMORE, J. A. *Extinction, survival and genetic variation*. In: SCHOENWALD-COX, C. M.; CHAMBERS, S. M.; MACBRYDE, B.; THOMAS, L. (eds) **Genetics and conservation**. The Benjamin/ Cummings Publishing Company, California, p. 125–151, 1983.

BELLON, M. R.; PHAM, J. L.; JACKSON, M. T. *Genetic conservation: a role for rice farmers*. In: MAXTED, N.; FORD-LLOYD, B. V.; HAWKERS, J. G. (eds.), **Plant Genetic Approach**. Chapman and Hall, London, 1997, p. 263-289.

BELLON, M. R. *Do we need crop landraces for the future? Realizing the global option value of *in situ* conservation*. In: KONTOLEON, A.; PASCUAL, U.; SMALE, M. (eds) **Agrobiodiversity and Economic Development**. Routledge, London and New York, p. 51–61, 2009.

BELLON, M. R.; VAN ETEN J. *Climate change and on-farm conservation of crop landraces in centers of diversity*. In: JACKSON, M.; FORD-LLOYD, B.; PARRY, M.; eds. **Plant genetic resources and climate change**. Oxford, England: CABI. p, 137-150, 2014.

BERENTSEN, P. B. M. et al. *Costs and benefits of on-farm nature conservation*. **Ecological Economic**. v. 2, p. 571–579, 2007.

BEVILAQUA, G. A. P. et al. *Agricultores guardiões de sementes e ampliação da agrobiodiversidade*. **Cadernos de Ciência & Tecnologia**, Brasília, v. 31, n. 1, p. 99-118, 2014.

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

BGCI - **International Agenda for Botanic Gardens in Conservation**. 2nd edition. Botanic Gardens Conservation International, Richmond, UK, p.23. 2012.

BITENCOURT, N.; SILVA, G. S. *Reação de genótipos de fava a *Meloidogyne incognita* e *M. enterolobii**. **Nematologia Brasileira**, v. 34, p. 184-186, 2010.

BRINK, M.; BELAY, G. *Plant resources of tropical Africa 1*. **Prota: Cereals and pulses**, p. 298, 2006.

BRUSH, S. B. In-situ conservation of landraces in centers of crop diversity. **Crop Science**, v. 35, p. 346–354, 1995.

CARVALHO, V. B. D. **Caracterização de genótipos de feijão-lima (*Phaseolus lunatus* L.) na região de Pelotas** – Rio grande do Sul. 2012. 78f. Dissertação (Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Sementes) - Universidade Federal de Pelotas. Pelotas, RS, 2012.

CIAT-**Centro Internacional de Agricultura Tropical**. Report. Cáli, Colômbia. p. 132, 1993.

CHACÓN-SÁNCHEZ, M. I; MARTÍNEZ-CASTILLO, J. Testing Domestication Scenarios of Lima Bean (*Phaseolus lunatus* L.) in Mesoamerica: Insights from Genome-Wide Genetic Markers. **Frontiers in Plant Science**, v. 8: p. 1551, 2017.

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

CRUZ-LEÓN et al. Etnoagronomía, tecnología agrícola tradicional y desarrollo. **Revista de Geografía Agrícola**, n. 55, p. 55-88, 2015.

DEBOUCK, D. G. et al. Observations on the domestication of *Phaseolus lunatus* L. **Plant Genet Resources Newsletter**, v. 70, p. 26–32, 1987.

DEBOUCK, D. G. Notes sur les différents taxons de *Phaseolus* à partir des Herbiers-Section Paniculati, 2008, p. 233. Disponível em: <https://ciat.cgiar.org/what-we-do/crop-conservation-and-use/>. Acesso em 16 de Jul de 2018.

DELGADO-SALINAS, A. et al. Phylogenetic analysis of the cultivated and wild species of *Phaseolus* (*Fabaceae*). **Systematic Botany**, v. 24, p. 438-460, 1999.

DOMÍNGUEZ, R.; JACOBO, J. Y.; ALEMÁN, R. **El uso del frijol reina o chilipuca (*Phaseolus lunatus*) en la región occidental de Honduras**. Centro Internacional sobre cultivos de cobertura (Eds.). Notícias sobre cultivo de cobertura, (Boletín 13) v. 13, p. 1-8, 2002.

EZEAGU, I. E.; IBEGBU, M. D. Biochemical composition and nutritional potential of ukpa: a variety of tropical lima beans (*Phaseolus lunatus*) from Nigeria – A short report. **Polish Journal of Food and Nutrition Sciences**, v. 60, n. 3, p. 231-235, 2010.

EZUEH, M. I. The cultivation and utilization of minor food legumes in Nigeria. **Trop. Grain Legume Bulletin.**, v. 10, p. 28–32, 1977.

FAO. The state of the world's plant genetic resources: diversity and erosion. Third World Resurgence. Farmers Rights and the Battle for Agrobiodiversity. Issue No. 72/ 73 KDN PP6738/1/96. **An excerpt from the Report on the State of the World's Plant Genetic Resources prepared by the FAO Secretariat for the**

International Technical Conference on Plant Genetic Resources at Leipzig, Germany, 17–23, 1996.

FÉLIX, D. T.; COELLO-COELLO, J.; MARTÍNEZ-CASTILLO, J. Wild to crop introgression and genetic diversity in Lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) in traditional Mayan milpas from Mexico. **Conservation Genetics**, v. 15, p.1315-1328, 2014.

FOFANA, B.; VEKEMANS, X.; JARDIN, P.; BAUDOIN, J. P. Genetic diversity in Lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) as revealed by RAPD markers. **Euphytica**, v. 95, p. 157–165, 1997.

FRAZÃO, J. E. M. et al. **Crescimento da fava em resposta a níveis de fósforo na presença e ausência de calagem em Latossolo Amarelo**. In: FERTBIO, 2004. Lages, SC. Anais... Lages-SC: SBCS. 2004.

FREYTAG, G. F.; DEBOUCK, D. G. Taxonomy, Distribution, and Ecology of the Genus *Phaseolus* (Leguminosae-papilionoideae) in North America, Mexico and Central America. **Botanical Research Institute of Texas (BRIT)**, Forth Worth, TX, USA, p. 298 2002.

FRIIS-HANSEN, E. Erosion of plant genetic resources causes and effects. *Geografisk Tidsskrift. Danish Journal of Geography Special*, v. 1, p. 61-68, 1999.

GANDOLFO, E. S. **Etnobotânica e urbanização: conhecimento e utilização de plantas de restinga no distrito do Campeche** (Florianópolis, SC). 2010, 107f. Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal) -Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2010.

GEPTS, P.; DEBOUCK, D. G. Origin, domestication, and evolution of the common bean (*Phaseolus vulgaris*). In: SCHOONHOVEN, A. van; VOYSEST, O. **Common beans: research for crop improvement**. Cali: CIAT, p.7-53. 1991.

GUIMARÃES, W. N. R. **Caracterização morfológica e molecular de acessos de feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.) da Coleção de Germoplasma do Departamento de Agronomia da UFRPE**. 74f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2005.

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

GRIN - **Germplasm Resources Information Network**. National Germplasm Resources Laboratory, Beltsville, Maryland [2016]. Disponível em: <<http://www.ars-grin.gov/misc/mmpnd/Phaseolus.html> >. Acesso em 17 de fevereiro de 2017.

GUTIÉRREZ-SALGADO A.; GEPTS, P.; DEBOUCK, D. G. Evidence for two gene *pools* of the Lima beans, *Phaseolus lunatus* L., in the Americas. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 42, p. 15-28, 1995.

HOLUBEC, V.; VYMYSLICKÝ, T.; PAPERŠTEIN F. Possibilities and Reality of *On-farm* conservation. **Genetic Plant Breeding**, v. 46, p.60–64 ,2010.

IBGE. **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**. Levantamento sistemático da produção agrícola. [2014] <<https://sidra.ibge.gov.br/tabela/1612#resultado>>. Acesso em: 17 jan. 2018.

IBGE. **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**. Levantamento sistemático da produção agrícola. [2016] <<https://sidra.ibge.gov.br/tabela/1612#resultado>>. Acesso em: 17 jan. 2018.

IBGE. **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**. Levantamento sistemático da produção agrícola. [2018]. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/estadosat/temas.php?sigla=pi&tema=lavouratemporaria2017>>. Acesso em: 17 jan. 2018.

IBEAUCHI, I. I. Landrace legumes: Synopsis of the culture, importance, potentials and roles in Agricultural Production Systems, Department of Crop Science and Technology, Federal University of Technology. **Journal of Biological Sciences**. Owerri, Nigeria, v. 7, n. 3, p. 464-474, 2007.

IWANAGA, M. **IPGRI strategy for *in situ* conservation of agricultural biodiversity**. In: J. M. M. Engels [ed.], *In situ* conservation and sustainable use of plant genetic resources for food and agriculture in developing countries. Report of a DSE/ATSAF/IPGRI workshop, 2–4 May 1995, Bonn-Röttgen, Germany, 13–26. International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy, 1996.

JARVIS, D. I. L. et al. A Training Guide for *In Situ* Conservation *On-farm*. Version 1. **International Plant Genetic Resources Institute**, Rome, Italy, 2000, p. 161.

KURODA, Y.; KAGA, A.; TOMOOKA, N.; VAUGHAN, D. A. Population genetic structure of Japanese wild soybean (*Glycine soja*) based on microsatellite variation. **Molecular Ecology**, v. 15, p. 959 – 974, 2006.

LEMOS, L. B.; OLIVEIRA, R. S.; PALOMINO, E. C.; SILVA, T. R. B. Características agrônômicas e tecnológicas de genótipos de feijão do grupo comercial Carioca. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 39, n. 4, p. 319-326, 2004.

LIOI, L.; GALAZO, I. Oligonucleotide DNA fingerprinting revealing polymorphism in *Phaseolus lunatus* L. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 49, p. 53-58, 2002.

LOPES, A. C. A.; GOMES, R. L. F.; ARAÚJO, R. L. **A cultura do feijão-fava no Meio-Norte do Brasil**. Teresina: EDUFPI, p. 272, 2010.

MACKIE, W. W. **Origin dispersal and variability of the Lima bean (*Phaseolus lunatus* L.)**. Hilgardia. v. 15, n. 1, p. 1-29, 1943.

MARTÍNEZ-CASTILLO, J. et al. Intraspecific diversity and morpho-phenological variation in *Phaseolus lunatus* L. from the Yucatan Peninsula, México. **Economic Botany**, v. 58, n. 3, p. 354–380, 2004.

MARTÍNEZ-CASTILLO et al. Structure and Genetic Diversity of Wild Populations of Lima Bean (*Phaseolus lunatus* L.) from the Yucatan Peninsula, Mexico. **Crop science**, v. 46, p. 1071-1080, 2006.

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

MARTÍNEZ-CASTILLO J. et al. Wholesale replacement of Lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) landraces over the last 30 years in northeastern Campeche, Mexico. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 59, p. 191-204, 2011.

MARTÍNEZ-CASTILLO J. et al. Wholesale replacement of Lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) landraces over the last 30 years in northeastern Campeche, Mexico. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 59, p. 191-204, 2012.

MARTÍNEZ-CASTILLO, J. et al. Genetic structure within the Mesoamerican gene pool of wild *Phaseolus lunatus* (Fabaceae) from Mexico as revealed by microsatellite markers: implications for conservation and the domestication of the species. **American Journal of Botany**, v.101, p.851–864, 2014.

MAQUET, A.; VEKEMANS, X. Z.; BAUDOIN, J. P. Phylogenetic study on wild allies of lima bean, *Phaseolus lunatus* (FABACEAE), and implications on its origin. **Plant Systematics and Evolution**, v. 218, n. 1-2, p. 43-54, 1999.

MAXTED, N.; GUARINO, L. Genetic erosion and genetic pollution of crop wild relatives. In FORD-LLOYD, B. V.; DIAS, S. R.; BETTENCOURT, E. (eds) **Genetic erosion and pollution assessment methodologies**. Proceedings of PGR Forum Workshop 5, Terceira Island, Autonomous Region of the Azores, Portugal, 2004, p. 35–45. Published on behalf of the European Crop Wild Relative Diversity Assessment and Conservation Forum, Biodiversity International, Rome, Italy, p. 100, 2006.

MELO, F. L. **Divergência genética em subamostras de feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.) por meio de marcadores agromorfológicos e microssatélites**. 106f. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento) – Universidade Federal do Piauí. Teresina, 2011.

MESSOU, T. et al. Physical and biochemical characteristics of the Seeds white variety of *Phaseolus lunatus* (L.) consumed in south-east of Côte d'Ivoire during maturation. **International Journal of Agriculture and Crop Sciences**, v. 8, n. 5, p. 713-722, 2015.

MOTTA-ALDANA, J. et al. Multiple origins of lima bean landraces in the Americas: evidence from chloroplast and nuclear DNA polymorphisms. **Crop Science**, v. 50, p. 1773-1787, 2010.

NETO, M. B. et al. Características morfológicas e produtivas em acessos de feijão-fava consorciados. **Tecnologia & Ciência Agropecuária**. João Pessoa, v. 10, n. 3, p. 23-27, jun. 2015.

NIENHUIS, J.; TIVANG, J.; SKROCH, P. Genetic relationships among cultivars and landraces of Lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) as measured by RAPD markers. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 2, p. 300-306, 1995.

NORGAARD, R. B.; SIKOR, T. O. Metodología y práctica de la agroecología. En: ALTIERI, M. A. (ed.). **Agroecología: Bases científicas para una agricultura sustentable**. CLADES/ACAO, La Habana, 1997.

OLIVEIRA, A. E. S. et al. Desenvolvimento do feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.) sob déficit hídrico cultivado em ambiente protegido. **HOLOS**, v. 01, p. 143-152, 2014.

OFFICE OF TECHNOLOGY ASSESSMENT (OTA). Technologies to Maintain Biological Diversity. Report OTA-F-330. Washington, D.C.: U.S. Government Printing Office, 1987.

RAFALSKI, J. A.; TINGEY, S. V. Genetic diagnostics in plant breeding: RAPDs, microsatellites and machines. **Trends in Genetics**. v. 9, p. 275-279, 1993.

PERONI, N. Manejo da Mandioca por Populações Tradicionais: Caiçaras em Mata Atlântica. In: BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. **Agrobiodiversidade e Diversidade Cultural**. Brasília: MMA/SBF, p. 38-42, 2006.

PERDOMO MOLINA, A. C. Etnoagronomía. En la base de la Agroecología. In: **Agroecología y Ganadería Ecológica**. n. 6, p. 56-58, 2011

RAMALHO, M. A. P.; SANTOS, J. B.; ZIMMERMANN, M. J. O. **Genética quantitativa em plantas autógamas: aplicações no melhoramento do feijoeiro**. Goiânia, Ed. da UFG, p. 271, 1993.

RUIZ-GIL, P. J. et al. Differentiation and genetic diversity of *Phaseolus lunatus* wild populations from Chiapas, México, and their genetic relationships with MI and MII groups. **Botanical Sciences**, v. 94, n. 04, 2016.

SANTOS, D.; CORLETT, F. M. F.; MENDES, J. E. M. F. **Produtividade e morfologia de vagens e sementes de variedade de fava no Estado da Paraíba**. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 37, n. 10, p. 1407-1412, 2002.

SANTOS, J. B. GAVILANES, M. L. Botânica. In: VIEIRA, C.; PAULA JR., T. J.; BORÉM, A. (Ed.). **Feijão**. 2 ed. Viçosa: UFV, p. 41-65, 2006.

SANTOS, J. O. et al. Genetic divergence for physical and chemical characters of seeds in lima bean (*Phaseolus lunatus*). **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, Michigan, v. 3, n. 5, p. 178-179, 2010.

SEIDU, K. T.; OSUNDAHUNSI, O. F.; OLALEYE, M T.; OLUWALANA, I. B. Amino acid composition, mineral contents and protein solubility of some lima bean (*Phaseolus lunatus* L. Walp) seeds coat. **Food Research International**, v. 73, 2015.

SERRANO-SERRANO, M. L. et al. Gene *pools* in wild Lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) from the Americas: evidences for an Andean origin and past migrations. **Molecular Phylogenetic Evolution**, v. 54, p. 76-87, 2010.

SERRANO-SERRANO, M. L. et al. Evolution and domestication of Lima bean in Mexico: evidence from ribosomal DNA. **Crop Science**, v. 52, p.1698–1712, 2012.

SILVA, S. M. S. et al. Composição Química de 45 Genótipos de Feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp). Teresina, (Embrapa Meio-Norte: Comunicado Técnico, 149), 2002.

SILVA, V. B. et al. Genetic diversity and promising crosses indication in lima bean (*Phaseolus lunatus*) accessions. Semina. **Ciências Agrárias (Impresso)**, v. 36, p. 683-692, 2015.

SINGH, S. P. **Common bean improvement in the tropics**. Plant Breeding Reviews, v. 10, p.199-269, 1992.

SOUSA, S. M.; DELGADO, A. Mexican leguminosae: Phytogeography, endemism, and origins. In: RAMAMOORTHY, T. P.; BYE, R.; LOT, A.; FA, J., (eds.). **Biological Diversity of Mexico**. Oxford University Press, New York, p. 459-511, 1993.

SULLIVAN, G. H.; DAVENPORT, L. R. In: JANICK, J.; SIMON, E. J. E. eds. **Dry edible beans: a new crop opportunity for the east north central region**. New York, Wiley, p. 585-588, 1993.

UPADHYAY, M. P.; STHAPIT, B. R. **Plant genetic resource conservation programs in Nepal: Some proposals for scientific basis of in situ conservation of agrobiodiversity**. Paper presented on the strengthening the scientific basis of *in situ* conservation of crop gene pools, Rome, Italy, IPGRI, 1995.

VANDER MEASEEN, L. J. G; SADIKIN, S. **Plant Resources of South East Asia**. Pulses Pudoc. Wageningen, The Netherlands, p. 56-60, 1989.

VARGAS, E. M. et al. Variación del tamaño de frutos y semillas en 38 poblaciones silvestres de *Phaseolus lunatus* (Fabaceae) del Valle Central de Costa Rica. **Revista Biología Tropical**, Costa Rica, v. 51, n. 3-4, p. 707-724, 2003.

VIEIRA, C. **Leguminosas de grãos: Importância econômica na agricultura e na alimentação humana**. Informe Agropecuário, Belo Horizonte, v. 16, n. 174, p. 5-11, 1992a.

VIEIRA, R. F. **A cultura do feijão-fava**. Informe Agropecuário, Belo Horizonte, v. 16, n. 174, p. 30-37, 1992b.

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

WINCH, T. *Growing Food: A Guide to Food Production*. 1. ed. Springer Netherlands, 2006.

WEBSTER, B. D., LYNCH, S. P.; TUCKER, C. L. A morphological study of the development of reproductive structures of *Phaseolus lunatus* L. **Journal of the American Society for Horticultural Science** v. 104, p. 240-243, 1979.

ZIMMERMANN, M. J. O.; TEIXEIRA, M. G. Origem e evolução. In: ARAÚJO, R. S.; RAVA, C. A.; STONE, L. F.; ZIMMERMANN, M. J. O. (Coord.). **Cultura do feijoeiro comum no Brasil**. Piracicaba: Potafos, 1996. p. 57-70.

CAPÍTULO I - Diversidade e estrutura genética do feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.) no Nordeste do Brasil

Resumo

O feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.) é uma das espécies do gênero *Phaseolus* que mais se destaca por sua importância econômica e social em diferentes regiões do mundo. No Brasil também pode-se encontrar grande diversidade morfológica e molecular, especialmente na região Nordeste, onde mais se produz e consome o feijão-fava. Portanto objetivou-se caracterizar a estrutura e diversidade genética de genótipos coletados no Nordeste do Brasil, utilizando oito *locos* de microssatélites. Foram coletados 42 genótipos de feijão-fava em propriedades de agricultores tradicionais nos estados do Ceará, Maranhão, Paraíba, Pernambuco e Piauí. Os índices de diversidade totais foram obtidos a partir da análise não hierárquica de todos os genótipos analisados. A análise de estrutura genética realizada pelo software Structure mostrou que os 42 genótipos formaram dois grupos genéticos distintos ($k=2$). Os valores de heterozigosidade observada (H_o) foram inferiores aos da heterozigosidade esperada (H_e) para a maioria dos genótipos, indicando deficiência de heterozigotos com relação ao Equilíbrio de Hardy-Weinberg. A análise de estruturação genética mostrou que a maior parte da variação total está entre genótipos, com um valor de F_{st} de 69%, sendo que dentro dos genótipos o valor do F_{is} foi de apenas 31%, indicando uma elevada estruturação genética. H_e variou de 0,144 a 0,47 entre os diferentes níveis de classificação, evidenciado a existência de ampla diversidade genética em feijão-fava cultivado no Brasil. Também se observou uma redução da heterozigose, devido aos elevados níveis de estruturação encontrados, o que pode ocasionar, no futuro, um processo de erosão genética. Os elevados níveis de estruturação genética entre os genótipos podem indicar redução da heterozigose causada pelo processo de deriva genética. Essas informações geradas nesse estudo podem ser utilizadas tanto para futuros programas de melhoramento do feijão-fava como para o monitoramento dos níveis de diversidade genética da espécie no Nordeste do Brasil.

Palavras-chave: *Landraces*, marcadores microssatélites, variabilidade genética, recursos genéticos.

1. Introdução

A origem do gênero *Phaseolus* e sua diversificação primária ocorreu nas Américas (DEBOUCK, 1991). Dentre as 70 espécies que o gênero *Phaseolus* possui, apenas cinco foram domesticadas (FREYTAG; DEBOUCK, 2002). O feijão-fava (*P. lunatus* L.) é uma das que mais se destaca com relação a importância social e econômica, ficando atrás apenas do feijão comum (*P. vulgaris* L.) (MAQUET; VEKEMANS; BAUDOIN, 1999; DELGADO-SALINAS et

al., 1999). O feijão-fava possui ampla adaptação a diferentes regiões do mundo, sendo cultivado na América do Norte, América do Sul, Europa, Leste e Oeste da África e sudeste da Ásia (BAUDOIN, 1998). No Brasil, essa espécie é preferencialmente cultivada na região Nordeste, onde é amplamente consumido como uma excelente fonte de proteína e com grande importância social e econômica (ALVES et al., 2014; AZEVEDO; FRANCO; ARAÚJO, 2003; VIEIRA, 1992).

O *P. lunatus* pode ser classificado como uma espécie que apresenta um sistema de reprodução misto, no qual predomina a autogamia. A autofecundação é favorecida pela sincronização entre a maturação dos grãos de pólen e o estigma e pela proximidade desses órgãos reprodutores dentro da flor (WEBSTER; LYNCH; TUCKER, 1979). Contudo, o nível de cruzamentos naturais pode variar de 10 a 48% (BAUDOIN et al., 1998). As elevadas taxas de cruzamentos naturais, que levam ao aumento do fluxo gênico resultam na segregação de diferentes caracteres, o que pode levar ao aumento nos níveis de diversidade genética da espécie (ORTEGA, 1974).

A diversidade genética é um parâmetro que determina o potencial de respostas adaptativas dos genótipos frente às mudanças do meio (CARUSO; BROGLIA; POCOVI, 2015). A estimativa da diversidade genética pode ser medida por marcadores morfológicos e moleculares, sendo esses últimos mais eficientes, devido ao alto nível de polimorfismo apresentado (RAFALSKI; TINGEY, 1993). Dentre as classes de marcadores de DNA, os microssatélites, também denominados de SSR ou STR (Repetições Curtas Aleatórias) são os mais indicados para estudos de diversidade e caracterização genética, pois possuem alto poder discriminatório, elevado conteúdo de informação de polimorfismo advindo de sua natureza multialélica. Além disso, são codominantes, abundantes no genoma e facilmente detectados em sistemas automatizados (RAFALSKI; TINGEY, 1993; ZEINALABEDINI et al., 2014).

Para o feijão-fava, é possível encontrar trabalhos avaliando o nível de diversidade genética de genótipos. Diferentes autores, avaliaram genótipos de feijão-fava na Américas do Sul e Central, utilizando marcadores AFLP (CASTIÑEIRAS et al., 2007; MONTERO-ROJAS et al., 2013). Trabalhos realizados no México utilizando marcadores microssatélites reportam elevada diversidade genética do feijão-fava no país (MARTÍNEZ-CASTILLO et al., 2008;

2014). Assim, o México é considerado um importante centro de diversidade genética de *P. lunatus*, devido a ampla variabilidade genética encontrada, tanto de genótipos silvestres como cultivados.

A diversidade genética pode variar dependendo de diversos fatores, como o *pool* gênico estudado, a região de estudo ou o tamanho das populações amostradas (MARTÍNEZ-CASTILLO et al., 2012). No Brasil, trabalhos apontam a existência de diversidade morfológica entre os genótipos de feijão-fava cultivados (GUIMARÃES et al., 2007; SILVA et al. 2015; SILVA et al., 2017). Apesar dos resultados encontrados, poucos trabalhos foram publicados envolvendo o germoplasma do Brasil com esse objetivo (PENHA et al., 2017; SILVA et al., 2017; SILVA et al., 2015). Penha et al. (2017), que analisaram 14 genótipos de feijão-fava de diferentes regiões do Brasil e encontram elevados níveis de diversidade genética da espécie, o que expõe a evidencia de que o país seja um centro diversidade do feijão-fava. Entretanto, para confirmar essa hipótese, é necessário que sejam realizados trabalhos com uma maior abrangência amostral e um número maior de locais.

No Brasil, tem-se observado mudanças no cenário produtivo do feijão-fava nas últimas décadas, pois os agricultores estão empregando mais tecnologia em suas lavouras, visando o aumento da produção. Essas mudanças se devem, principalmente, ao preço atrativo do feijão-fava no mercado, sendo três vezes maior que o preço do feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.), podendo chegar de 10-15 dólares por quilo (LOPES et al., 2010). É provável que as alterações no modo de produção, associados à seleção dos genótipos dirigida pela demanda de mercado, estejam contribuindo para a perda de diversidade, uma vez que o cultivo de variedades tradicionais pode diminuir ou aumentar em função da flutuação dos preços no mercado e da preferência dos consumidores.

No México, foi possível observar um cenário similar com relação a mudanças no modo de produção da espécie por agricultores tradicionais, além seleção de variedades influenciada pela demanda de mercado. Martínez-Castillo et al. (2008; 2012) compararam os níveis de diversidade genética de genótipos coletados no México em 1979 em relação aos coletados em 2007, por meio de marcadores SSR, e puderam concluir que ocorreu um processo de erosão genética, ao observar uma redução nos estimadores de diversidade genética (porcentagem de *locos* polimórficos, número de alelos, número de alelos efetivos

e heterozigossidade usando o índice de diversidade genética de Nei) nos genótipos coletados em 2007 com relação aos coletados em 1979.

A alterações no manejo, problemas ambientais e influência do mercado, podem levar a perda de variabilidade genética. Esse processo de perda ou decréscimo da diversidade genética de um grupo ou entre grupos de indivíduos de uma mesma espécie ao longo do tempo pode ser conceituado como erosão genética (JARVIS et al., 2000).

O fenômeno da perda de diversidade gênica, na maioria das vezes, é resultado de alterações ocasionadas pelas atividades agrícolas, econômicas e sociais, além de mudanças edafoclimáticas (FAO, 1996; VAN DE WOUW et al., 2010). Dessa forma, a caracterização dos níveis de diversidade genética é uma importante ferramenta para o planejamento de programas de conservação. Ademais, a informação dos níveis de diversidade é fundamental para os programas de melhoramento genético, já que a identificação de populações com ampla diversidade pode subsidiar a escolha de genótipos para compor a população base.

Sendo assim, objetivou-se por meio do presente trabalho caracterizar a estrutura e diversidade genética entre genótipos de feijão-fava coletados no Nordeste do Brasil, utilizando oito *locos* microssatélites.

2. Material e Métodos

Material vegetal

Foram coletados 42 genótipos (381 indivíduos) de feijão-fava em propriedades de agricultores tradicionais nos estados do Ceará, Maranhão, Paraíba, Pernambuco e Piauí (Figura 2, Tabela 1), nos anos de 2014 a 2016. Esses estados foram escolhidos por apresentarem as maiores produções de feijão-fava segundo IBGE (2016).

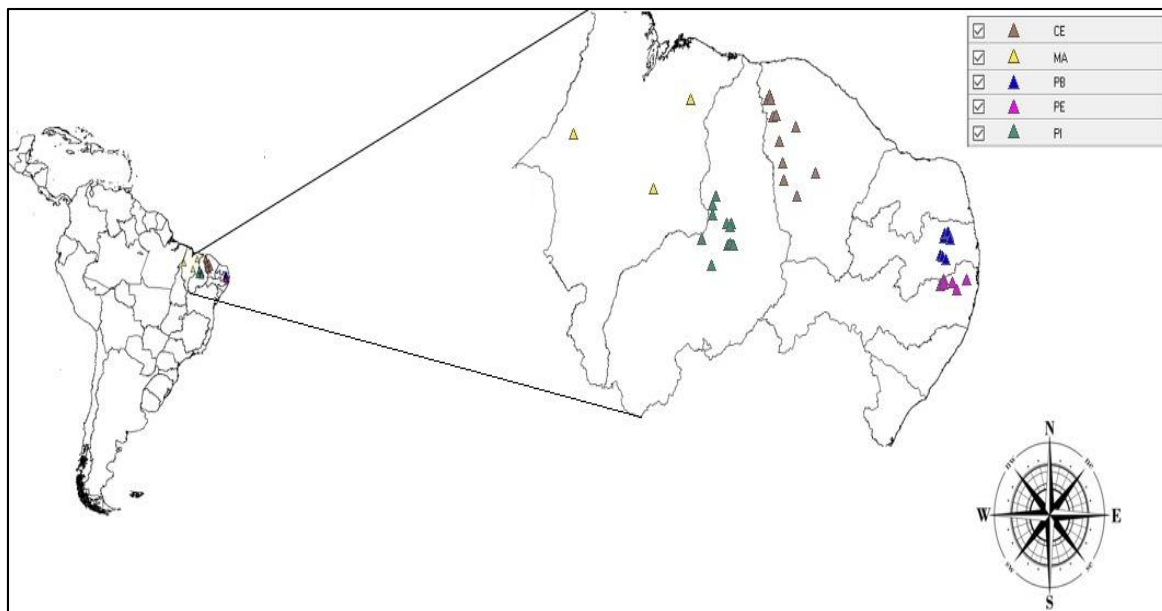


Figura 2. Pontos de coleta dos 42 genótipos de feijão-fava (*Phaseolus lunatus*) coletados nos estados do Nordeste do Brasil.

Tabela 1. Identificação, dados geográficos e morfotipos de 42 genótipos (381 indivíduos) de feijão-fava do Nordeste do Brasil

Genótipos	Estado	Cidade	Latitude	Longitude	Ano de coleta	Morfotipo
UFPI 804	PI	Angical do Piauí	6°05'49,2"S	42°44'27,6"O	2014	A1
UFPI 807	PI	Amarante	6°20'31,2"S	42°44'49,2"O	2014	A2
UFPI 810	PI	Água Branca	5°55'26,4"S	42°37'33,6"O	2014	A3
UFPI 827	PB	Araras	6°53'13,2"S	35°41'31,2"O	2014	A4
UFPI 828	PB	Araras	6°53'49,2"S	35°46'19,2"O	2014	A5
UFPI 847	PB	Serraria	6°49'26,4"S	35°39'07,2"O	2014	A6
UFPI 849	PB	Serraria	6°49'26,4"S	35°39'07,2"O	2014	A7
UFPI 844	PB	Serraria	6°50'45,6"S	35°37'58,8"O	2014	A3
UFPI 862	CE	Crateús	5°11'56,4"S	40°39'43,2"O	2015	A6
UFPI 866	CE	São Benedito	4°05'38,4"S	40°55'01,2"O	2015	A5
UFPI 868	CE	Tatuá	5°54'07,2"S	40°13'22,8"O	2015	A6
UFPI 873	PB	-	-	-	2014	A8
UFPI 889	MA	Paraibano	5°45'36,0"S	44°28'51,6"O	2015	A9
UFPI 892	PI	São Gonçalo	6°38'06,0"S	42°10'26,4"O	2015	A3
UFPI 893	PI	São Gonçalo	6°38'06,0"S	42°10'19,2"O	2015	A1
UFPI 987	PB	Fagundes	4°07'26,4"S	40°56'31,2"O	2015	A10
UFPI 902	CE	São Benedito	3°45'00,0"S	43°22'44,4"O	2015	A5
UFPI 922	MA	Chapadinha	6°33'43,2"S	42°17'56,4"O	2014	A3
UFPI 923	PI	Tanque	7°51'25,2"S	35°47'13,2"O	2015	A1
UFPI 928	PE	Surumbi	7°49'19,2"S	35°48'39,6"O	2016	A11
UFPI 929	PE	Surumbi	6°33'00,0"S	42°10'08,4"O	2016	A12
UFPI 946	PI	Várzea Grande	7°52'22,8"S	35°14'24,0"O	2016	A1
UFPI 957	PE	-	-	-	2016	A4
UFPI 976	CE	Tianguá	7°21'39,6"S	35°47'13,2"O	2016	A12
UFPI 988	CE	Tianguá	5°25'19,2"S	39°40'30,0"O	2016	A14
UFPI 997	CE	Tianguá	3°40'15,6"S	41°10'40,8"O	2016	A3
UFPI 998	CE	Tianguá	3°43'55,2"S	41°02'31,2"O	2016	A5
UFPI 1002	PE	Passira	8°00'57,6"S	35°30'39,6"O	2016	A9

Continua

UFPI 1003	PE	João Alfredo	7°51'54,0"S	35°36'43,2"O	2016	A13
UFPI 1004	PE	Santa Maria do Cambucá	7°49'37,2"S	35°55'01,2"O	2016	A8
UFPI 1005	PE	Santa Maria do Cambucá	7°49'08,4"S	35°54'39,6"O	2016	A7
UFPI 1006	PE	Santa Maria do Cambucá	7°46'51,6"S	35°52'30,0"O	2016	A9
UFPI 1007	PE	Santa Maria do Cambucá	7°55'22,8"S	35°48'36,0"O	2016	A12
UFPI 1010	PB	Queimadas	7°20'20,4"S	35°51'07,2"O	2016	A15
UFPI 1012	PB	Queimadas	7°20'20,6"S	35°51'03,6"O	2016	A12
UFPI 1014	PB	Queimadas	7°17'52,8"S	35°51'50,4"O	2016	A6
UFPI 1015	PB	Queimadas	7°18'36,0"S	35°54'00,0"O	2016	A3
UFPI 1016	PB	Solânea	6°48'00,0"S	35°45'07,2"O	2016	A5
UFPI 1017	PB	Solânea	6°47'34,8"S	35°45'57,6"O	2016	A3
UFPI 1021	PB	Arreia	6°52'37,2"S	35°48'32,4"O	2016	A12
UFPI 1109	MA	São Domingos	5°45'00,0"S	44°27'57,6"O	2016	A9
UFPI 1113	MA	Bom Jesus das Selvas	4°31'15,6"S	46°51'21,6"O	2016	A9

*Estados: CE: Ceará, MA: Maranhão, PE: Pernambuco, PB: Paraíba PI= Piauí; ** Morfotipos distintos: classificados com relação a cor principal e tamanho da semente.

Extração de DNA

O DNA foi extraído de folhas de aproximadamente 10 plantas de cada um dos 42 genótipos no Laboratório de Biologia Molecular do Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal do Piauí (UFPI), resultando em um total de 381 indivíduos analisados. A extração do DNA foi realizada usando como detergente o CTAB, descrito conforme a metodologia de Doyle; Doyle (1987) modificado.

A qualidade do DNA extraído foi verificada em eletroforese de gel de agarose a 0,8% sendo coradas com GelRed®. O DNA foi quantificado por espectrofotometria no equipamento NanoDrop™ 2000. As amostras foram diluídas para a concentração final de 40 ng/μL.

Amplificação dos microssatélites

As análises de amplificação dos *locos* microssatélites foram realizadas no Laboratório de Marcadores Moleculares do Centro de Investigación Científica de Yucatán, Mérida, Yucatán, México. Para a caracterização molecular, testou-se 15 *primers* de microssatélite de *P. vulgaris* desenvolvidos por Gaitán et al. (2002), entretanto apenas oito, se mostraram polimórficos.

As reações de amplificação para os oito *locos* (Tabela 2) foram realizadas com um volume de 20 μl para a Reação em Cadeia de Polimerase em volume (PCR), consistindo em tampão de PCR 10X, 50 mM de MgCl₂, mix de 10mM de dNTP, 10 mM de cada iniciador (*forward* e *reverse*), 5 u/μl de polimerase de Taq e 40 ng de DNA. O programa de PCR consistiu em 35 ciclos, cada um, sendo: desnaturação de 15 segundos a 94 °C, alinhamento de 15 segundos dependendo da temperatura de alinhamento dos iniciadores empregados, e a extensão de 15 segundos a 72° C e uma extensão final de 5 minutos a 72° C.

A amplificação por PCR foi feita em um sistema de PCR de termociclador GeneAmp 9700 (*Applied Biosystems*, Foster City, EUA). Um volume de 5 μL de formamida contendo 0,45% de azul de bromofenol e 0,25% de xileno cianol foi adicionado ao produto de PCR e foi desnaturado durante um período de 5 min a 94 ° C, depois carregou-se 5 μL deste produto da reação em 5% de poli(acrilamida-géis (acrilamida-bisacrilamida 19: 1) contendo ureia 5 M e tampão EDTA (TBE) Tris-borato 0,5X (TBE).

A eletroforese foi realizada em cubas verticais a uma potência constante de 40 W durante 1 hora e 50 minutos (sequenciador SQ3, *Hoeffer Scientific Instruments*, San Francisco, CA). Os produtos de amplificação foram visualizados com a técnica de coloração de prata (BASSAM et al., 1991). O tamanho do fragmento foi determinado visualmente em pares de bases (pb), utilizando como referência um marcador molecular de 10 pb.

Tabela 2. Características dos oito *locos* microssatélites utilizados na caracterização molecular de 42 genótipos de *Phaseolus lunatus* cultivadas no Nordeste do Brasil.

<i>Loco</i>	Sequência SSR	5' a 3'	Sequência do iniciador	Fragmentos (pb)	Ta°C
AG1	(GA) ₈ GGTA(GA) ₅	F	CATGCAGAGGAAGCAGAGTG	132-154	52
		R	GAGCGTCGTCGTTTCGAT		
BM 140	(GA) ₃₀	F	CCTACCAAGATTGATTTATGGG	164-184	55
		R	TGCACAACACACATTTAGTGAC		
BM 143	(GA) ₃₅	F	ATGTTGGGAACTTTTAGTGTG	143-169	55
		R	GGGAAATGAACAGAGGAAA		
BM 154	(CT) ₁₇	F	CTGAATCTAGGAACGATGACCAG	190-196	50
		R	TCTTGCGACCGAGCTTCTCC		
BM156	(CT) ₃₂	F	CTTGTTCCACCTCCCATCATAGC	219-225	52
		R	TGCTTGCATCTCAGCCAGAATC		
BM 164	(GT) ₉ (GA) ₂₁	F	CCACCACAAGGAGAAGCAAC	142	52
		R	ACCATTCAGGCCGATACTCC		
BM 170	(CT) ₅ CCTT(CT) ₁₂	F	AGATAGGGAGCTGGTGGTAGC	167-175	50
		R	AGCCAGGTGCAAGACCTTAG		
BM 211	(CT) ₁₆	F	ATACCCACATGCACAAGTTTGG	194-224	52
		R	CCACCATGTGCTCATGAAGAT		

*Ta, temperatura de anelamento em graus Celsius; pb, tamanho de fragmento encontrado em pares de bases.

Análise dos Dados

A estrutura genética foi avaliada por meio da análise de variância molecular (AMOVA) não hierárquica, usando o software ARLEQUIN versão 3.5 (EXCOFFIER et al., 2005). Um teste de Mantel foi aplicado para verificar a hipótese de isolamento pela distância entre os genótipos do Nordeste do Brasil usando o software R (versão 3.1.3) (R CORE TEAM, 2016). Valores de FIS (coeficiente de endogamia) e FST (grau de diferenciação entre as populações) emparelhados foram calculados entre os *pools* gênicos também com o uso do software GENALEX versão 6.5.

Foi utilizado o software Microchecker versão 2.2.3, para verificar a ocorrência de alelos nulos e erros de genotipagem (VAN OOSTERHOUT et al., 2004).

O padrão de agrupamento entre os genótipos foi determinado por meio do software STRUCTURE versão 2.3.4 (PRITCHARD et al., 2000), a partir de uma abordagem baynesiana de agrupamento. Foi utilizado o modelo de admixture com frequências de alelos correlacionadas. Os parâmetros utilizados foram: 100.000 burn-ins e 200.000 iterações após os burn-ins para permitir que a Cadeia de Markov fique estacionada. Para determinar o número ótimo de populações existentes (K otimizado), um total de dez simulações independentes foram executadas para cada valor de K (já que os genótipos analisados foram classificados em 15 morfotipos segundo a morfologia da semente). E para prevenir erros de classificação, considerou-se uma corrida no STRUCTURE de K=1 a K = 20). Com os arquivos de saída gerados por STRUCTURE, o valor ótimo de K foi obtido usando o método de Evanno (EVANNO et al., 2005) pelo programa STRUCTURE HARVESTER (EARL; VONHOLDT, 2012).

A análise de coordenadas principais (PCoA), permite explorar os padrões de agrupamento dos genótipos sem dados a priori, usando cada alelo como uma variável independente, foi realizada por meio do programa GENALEX 6.5 (PEAKALL; SMOUSE, 2012).

A diversidade genética foi estimada pela análise de todos os indivíduos coletados (análise não hierárquica), além disso foi utilizado um desenho hierárquico com as seguintes fontes de variação: o *pool* gênico analisando morfotipo (os indivíduos foram agrupados segundo a cor e tamanho da semente), considerando o agrupamento dos indivíduos por estado, e o resultado da análise

de agrupamento obtida pelo Structure. Foi estimada a percentagem de *locos* polimórficos (% P), heterozigidade observada (H_o) e heterozigidade esperada (H_e), número médio de alelos por locus (N_a), número de alelos efetivos (N_e) e número de migrantes (N_m) usando o software GENALEX 6.5 (PEAKALL; SMOUSE, 2012). A riqueza alélica (RA) foi calculada com o programa FSTAT 2.9.3 (GOUDET, 2001).

3. Resultados e Discussão

Estrutura genética

A análise de estrutura genética mostrou que a maior parte da variação total está entre genótipos, com um valor de F_{st} de 0,69 (ou 69%) e apenas 31% dentro dos genótipos ($F_{is} = 0,31$), indicando uma elevada estruturação genética (Tabela 3).

A alta estrutura genética dos genótipos no Nordeste brasileiro pode ser explicada pelo baixo fluxo gênico entre os mesmos ($N_m = 0,13$). Já que o feijão-fava é uma espécie autógama ou de sistema de reprodução mista, em que o fluxo de genes é baixo ou ausente. Resultando em baixa diversidade genética entre os indivíduos de um genótipo (F_{is} - coeficiente de endogamia - baixo) e alta diversidade genética entre os diferentes genótipos (F_{st} - índice de fixação - elevado). Os valores encontrados são similares aos encontrados por Camacho-Perez et al. (2018). A uniformidade genética também pode ter se dado pela seleção de genótipos realizada pelos agricultores em decorrência da comercialização dos grãos pela influência da preferência dos consumidores.

Em um estudo sobre a diferenciação e diversidade genética do feijão-fava no estado de Chiapas, México, Ruiz-Gil et al. (2016) encontraram valores de F_{st} que variam de 0,42 a 0,96, entretanto deve-se considerar que esses autores analisaram genótipos silvestres. Já Camacho-Perez et al. (2018), analisando 46 acessos cultivados de *P. lunatus* por populações Mayas, por meio de marcadores ISSR, encontraram valores de $F_{st} = 0,66$. Penha et al. (2017) utilizando um estimador análogo ao F_{st} para analisar a estrutura populacional de 14 genótipos de feijão-fava do Brasil, encontraram elevados níveis de estruturação genética ($G_{st} = 0,902$).

Esses resultados apontam reduzido fluxo gênico e elevada estruturação genética, e, portanto, a ocorrência de diferenciação entre os genótipos. Assim, a

realização de troca de germoplasma entre os produtores de diferentes localidades pode ser uma interessante alternativa para a manutenção da variabilidade genética entre os genótipos da região Nordeste do Brasil, desde que os agricultores não substituam por completo os genótipos tradicionais pelos introduzidos, de forma a não perder alelos locais essenciais para a adaptação.

Além disso existe a possibilidade que a estruturação genética pode ter sido influenciada pelas grandes distâncias que separam os locais de cultivo, já que o território brasileiro é muito extenso e as cidades estão localizadas muitas vezes distante umas das outras, tornando difícil a troca de germoplasma entre os agricultores de diferentes estados e até mesmo de diferentes cidades. Para testar tal hipótese, foi realizado o teste de Mantel, entretanto não houve significância entre a correlação genética e a distância geográfica ($r=0,11$; $p>0,05$), conseqüentemente pôde-se descartar a hipótese de isolamento por distância.

Como os genótipos de feijão-fava avaliados neste estudo são cultivados, a estruturação das populações pode ter se dado não por isolamento geográfico, como ocorre muito em espécies silvestres, mas sim pela preferência dos agricultores e de mercados regionais. Isto influencia fortemente em quais genótipos podem ser encontrados em uma dada região do país, podendo ser determinante na ocorrência ou não de intercâmbio de genótipos entre agricultores de diferentes localidades.

Tabela 3. Análise de variância molecular não hierárquica (AMOVA) de 42 genótipos de feijão-fava.

F. V.	GL	SQ	CV	% de Variação	p-valor
Entre Populações	41	988,644	1,297	69,00	0,000
Dentro de populações	720	421,286	0,585	31,00	0,000
Média	761	1.409,930	1,882		0,000

F. V= Fonte de variação; G. L= Grau de liberdade; S. Q= Soma dos quadrados; C. V= Coeficiente de variação

A análise de estruturação genética dos genótipos coletados em 2016, confirma o resultado mostrado pelo valor de Fst. O método de Evanno mostrou um valor ideal de $K=2$ (Figura 3), indicando que há dois grupos genéticos

distintos no *pool* de 42 genótipos de *P. lunatus* coletados nos cinco estados da região Nordeste do Brasil.

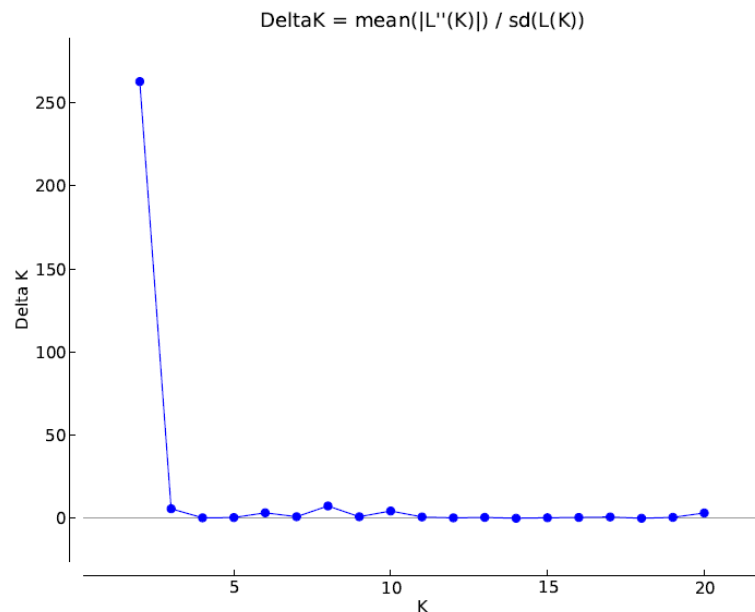


Figura 3. Gráfico de valor de Delta K para os 42 genótipos analisados.

O gráfico obtido com o programa STRUCTURE mostrou um $K=2$ (Figura 4), com base em um mínimo de 70% de ancestralidade, que os dois grupos estão formados por: 1) Grupo vermelho: UFPI 804, UFPI 807, UFPI 810, UFPI 844, UFPI 862, UFPI 866, UFPI 868, UFPI 889, UFPI 892, UFPI 893, UFPI 922, UFPI 928, UFPI 929, UFPI 946, UFPI 957, UFPI 976, UFPI 988, UFPI 997, UFPI 1003, UFPI 1004, UFPI 1006, UFPI 1007, UFPI 1010, UFPI 1012, UFPI 1021, UFPI 1109, UFPI 1113 (agrupou genótipos de todos os estados); 2) Grupo verde: UFPI 827, UFPI 828, UFPI 847, UFPI 849, UFPI 866, UFPI 873, UFPI 902, UFPI 998, UFPI 1002, UFPI 1004, UFPI 1005, UFPI 1014, UFPI 1015, UFPI 1016 (estão agrupados genótipos do CE, PE e PB) (Figura 4).

Entretanto, a análise com $K=2$ não agrupou os indivíduos segundo morfotipos tampouco mostrou evidências de agrupamento conforme a classificação por estados. Em trabalho de diversidade e estrutura genética do feijão-fava, Silva (2011), analisando 192 genótipos coletados em quatro regiões do Brasil (Centro-Oeste, Nordeste, Sudeste e Sul) com marcadores SSR, observou a formação de apenas três grupos. A divisão em poucos grupos é

relatada por diferentes autores, representa os conjuntos gênicos Andino e Mesoamericano (CAICEDO et al., 1999; RUIZ-GIL et al., 2016).

Para a análise de PCoA, que usa outro método de agrupamento baseado no compartilhamento de alelos, foram desconsiderados os genótipos *no-admixture*, ou seja, os genótipos que não pertencem a nenhum dos grupos vermelho e verde. O PCoA apresentou um padrão geral de agrupamento similar ao mostrado pelo STRUCTURE, concordando com o resultado obtido pela análise bayesiana, demonstrando novamente a formação de dois grupos distintos (Figura 5). Para esta análise, os eixos 1 e 2 representaram 32,84% e 11,38% da variação total, respectivamente. As cores são correspondentes as mesmas dos grupos formados pelo STRUCTURE.



Figura 4. Análise de agrupamento de 42 genótipos de feijão-fava (*Phaseolus lunatus*) do Nordeste do Brasil. A ordem dos genótipos corresponde aos que estão apresentados na Tabela 1.

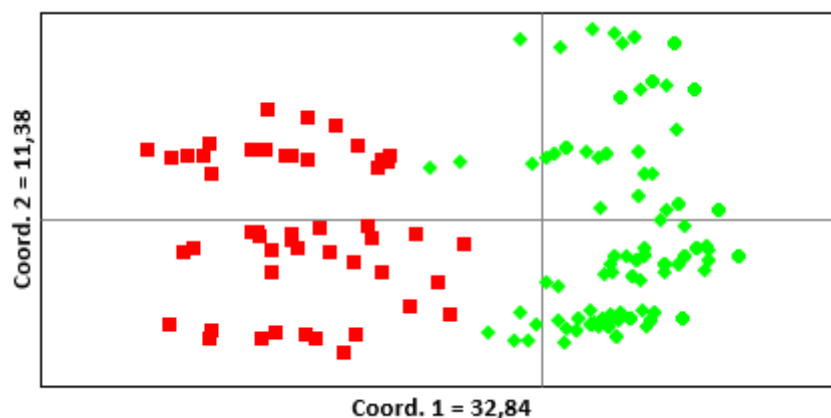


Figura 5. Análise de coordenadas principais (PCoA) com 42 genótipos cultivados de *Phaseolus lunatus* do Nordeste do Brasil, usando oito *locos* microssatélites. As cores do gráfico correspondem às mesmas cores dos grupos formados pelo STRUCTURE.

Diversidade genética do feijão-fava

A partir dos oito *primers* analisados foi possível encontrar um total de 27 alelos, com um número médio de 3,37 por *loco* estudado. Os *locos* BM143 e BM211 mostraram o maior número de alelos (5 alelos diferentes cada).

Foi possível encontrar os seguintes valores médios de diversidade genética para os 42 genótipos estudados de acordo com os parâmetros que estão na Tabela 4. A riqueza alélica variou de 1,0 em UFPI 828, UFPI 849 a 1,989 em UFPI 866. Os genótipos que apresentaram os valores de riqueza alélicas mais baixo também apresentaram valores reduzidos dos demais índices de diversidade genética.

A maioria dos valores de heterozigosidade observada (H_o) foram inferiores aos valores de heterozigosidade esperada (H_e) com exceção de UFPI 902, UFPI 922, UFPI 1004, UFPI 1005, UFPI 1014 e UFPI 1113. O que indica deficiência de heterozigotos com relação ao Equilíbrio de Hardy-Weinberg. Esses resultados diferem dos valores médios de H_o e H_e encontrados por Penha et al. (2017) para os 14 acessos estudados de feijão-fava. Esses autores encontraram valores mais elevados de H_o quando comparados com H_e entre os genótipos.

Tabela 4. Estimadores de diversidade genética de 42 genótipos de feijão-fava analisados de forma não hierárquica.

Genótipo	% P	Na	Ne	RA	Ho	He
UFPI 804	37,50	1,375	1,111	1,260	0,014	0,081
UFPI 807	50,00	1,500	1,097	1,297	0,028	0,079
UFPI 810	12,50	1,125	1,100	1,124	0,000	0,056
UFPI 827	50,00	1,500	1,222	1,383	0,044	0,139
UFPI 828	0,00	1,000	1,000	1,000	0,000	0,000
UFPI 847	37,50	1,375	1,146	1,295	0,031	0,100
UFPI 849	0,00	1,000	1,000	1,000	0,000	0,000
UFPI 844	62,50	1,625	1,466	1,606	0,016	0,261
UFPI 862	25,00	1,250	1,174	1,237	0,050	0,100
UFPI 866	87,50	2,000	1,895	1,989	0,000	0,430
UFPI 868	62,50	1,750	1,140	1,442	0,078	0,112
UFPI 873	50,00	1,625	1,335	1,493	0,150	0,175
UFPI 889	50,00	1,500	1,305	1,463	0,050	0,183
UFPI 892	25,00	1,250	1,113	1,174	0,040	0,067
UFPI 893	37,50	1,500	1,213	1,338	0,013	0,107
UFPI 987	75,00	1,875	1,714	1,839	0,328	0,358
UFPI 902	37,50	1,500	1,409	1,470	0,203	0,192
UFPI 922	25,00	1,250	1,102	1,200	0,088	0,069
UFPI 923	62,50	1,625	1,138	1,396	0,050	0,111
UFPI 928	37,50	1,375	1,145	1,285	0,000	0,098
UFPI 929	25,00	1,250	1,168	1,226	0,038	0,094
UFPI 946	37,50	1,375	1,265	1,331	0,000	0,144
UFPI 957	25,00	1,250	1,129	1,175	0,013	0,072
UFPI 976	37,50	1,500	1,250	1,398	0,038	0,144
UFPI 988	12,50	1,125	1,091	1,122	0,000	0,053
UFPI 997	37,50	1,375	1,194	1,287	0,075	0,114
UFPI 998	37,50	1,375	1,201	1,328	0,088	0,125
UFPI 1002	50,00	1,750	1,424	1,611	0,138	0,214
UFPI 1003	62,50	1,625	1,147	1,380	0,025	0,112
UFPI 1004	62,50	1,625	1,397	1,518	0,228	0,219
UFPI 1005	37,50	1,375	1,275	1,331	0,238	0,147
UFPI 1006	37,50	1,375	1,180	1,288	0,025	0,108
UFPI 1007	50,00	1,500	1,220	1,417	0,038	0,147
UFPI 1010	25,00	1,250	1,086	1,194	0,025	0,063
UFPI 1012	12,50	1,125	1,086	1,123	0,000	0,051
UFPI 1014	62,50	1,625	1,426	1,617	0,250	0,245
UFPI 1015	62,50	1,625	1,408	1,600	0,188	0,238
UFPI 1016	50,00	1,500	1,333	1,471	0,100	0,195
UFPI 1017	50,00	1,500	1,406	1,494	0,097	0,223
UFPI 1021	62,50	1,750	1,338	1,565	0,109	0,196
UFPI 1109	62,50	1,750	1,530	1,673	0,125	0,272
UFPI 1113	62,50	1,625	1,293	1,462	0,188	0,175
Média	42,56	1,458	1,254	1,379	0,076	0,144

% P: porcentagem de *locos* polimórficos a 95%; Na: número de alelos; Ne: número de alelos efetivos; RA: riqueza alélica; Ho: heterozigosidade observada; He: heterozigosidade esperada

O feijão-fava, apesar de ser uma espécie preferencialmente autógama, pode ser considerada de sistema de reprodução misto, como relatado por Baudoin et al. (1998) e Zoro Bi et al. (2005), com taxas de cruzamento natural de 48% e 27% respectivamente e por Penha et al. (2017) que encontraram taxas de 38,1% para genótipos cultivados no Brasil. As diferenças encontradas entre os três trabalhos, que apresentaram excesso de heterozigotos, e este presente estudo, que apresentou deficiência de heterozigotos, pode ser atribuída a fatores intrínsecos aos genótipos estudados (tempo de abertura da flor e proximidade de anteras e estigma dentro da quilha no momento da liberação do pólen), as diferentes condições ambientais (como temperatura, vento, chuvas) e à presença de polinizadores na área (BAUDOIN et al., 2004).

Além disso, pode ter ocorrido cruzamentos entre indivíduos aparentados (cruzamentos associativos de plantas da mesma população) dos genótipos estudados neste trabalho, e isso pode ter contribuído para diminuir a diversidade e reduzir o número de heterozigotos. Assim, mesmo apresentado uma taxa de cruzamento significativa, isso pode não ser suficiente para um aumento considerável na diversidade. Em espécies autógamas, como o feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*), a H_o pode ser muito baixa, podendo chegar a zero (BURLE et al., 2010).

Para a estimativa de diversidade apresentadas por morfotipo (Tabela 5), os valores de riqueza alélica foram baixos variando de 1,373 (morfotipos a10 e a2) a 2,336 (morfotipo a5), com média de 1,812 para os 15 morfotipos. Os valores de H_o foram inferiores aos valores de H_e para todos, indicando deficiência de heterozigotos. O déficit de heterozigosidade é observado quando se compara o número de heterozigotos observados com o número esperado, que é bem maior, demonstrando um aumento na uniformidade genética. A média da heterozigosidade observada (H_o) foi 0,07, variando de 0 a 0,19 para o morfotipo a15. Para a heterozigosidade esperada (H_e) a média entre os morfotipos foi de 0,28, sendo que o valor máximo foi de 0,47 para o morfotipo a3.

Os morfotipos que apresentaram os maiores valores de diversidade segundo o parâmetro de H_e foram a3 e a5. Os genótipos classificados como morfotipo a3 foram coletados nos estados do Ceará, Paraíba, Piauí e Maranhão, enquanto que os genótipos classificados como morfotipo a5 somente foram encontrados em coletas realizadas nos estados do Ceará e Pernambuco.

Segundo dados do IBGE (2016) esses estados estão listados como os que apresentaram as maiores produções de feijão-fava do Brasil (Paraíba: 3.592 toneladas, Ceará 2.605 toneladas, Pernambuco: 2.027 toneladas e Piauí: 595 toneladas). Assim, o maior intercâmbio entre agricultores desses estados pode estar sendo motivado pela busca por genótipos mais produtivos e que atendam a preferência de mercado, já que no Brasil ainda não existem registros de cultivares melhoradas, fato que pode ter favorecido o incremento da diversidade genética entre os morfotipos encontrados nesses estados.

Tabela 5. Estimativas da diversidade genética e coeficientes de endogamia de 42 genótipos de feijão-fava, agrupados por morfotipos.

Morf.	%P	Na	Ne	RA	Ho	He
a1	87,5	2,13	1,53	1,927	0,02	0,32
a2	37,5	1,38	1,27	1,373	0,01	0,15
a3	100,0	2,63	1,96	2,321	0,05	0,47
a4	75,0	2,13	1,32	1,703	0,03	0,18
a5	100,0	2,50	1,88	2,336	0,13	0,45
a6	75,0	1,75	1,38	1,625	0,02	0,22
a7	37,5	1,50	1,20	1,430	0,03	0,13
a8	87,5	1,88	1,40	1,802	0,05	0,26
a9	100,0	2,50	1,89	2,253	0,14	0,42
a10	37,5	1,38	1,20	1,373	0,03	0,12
a11	62,5	1,63	1,25	1,603	0,04	0,17
a12	100,0	2,25	1,85	2,159	0,09	0,44
a13	62,5	1,88	1,53	1,853	0,10	0,27
a14	62,5	1,88	1,59	1,853	0,14	0,29
a15	62,5	1,63	1,29	1,568	0,19	0,18
Média	72,5	1,93	1,50	1,812	0,07	0,28

% P: porcentagem de *locos* polimórficos a 95%; Na: número de alelos; Ne: número de alelos efetivos; RA: riqueza alélica; Ho: heterozigosidade observada; He: heterozigosidade esperada.

Os parâmetros de diversidade, considerando os genótipos organizados por estados, mostra que o número médio de alelos diferentes (Na) variou de 2,38 (PI e MA) a 3,25 (PB) (Tabela 6); a porcentagem de *locos* polimórficos (% P) foi 100% para todos os genótipos agrupados por estados. O Ne variou de 1,76 (Ceará) a 2,00 (Maranhão) com uma média de 1,86. A Ho variou de 0,02 (Piauí) a 0,11 (Paraíba). A média da He foi de 0,44 variando de 0,41 (CE e PE) a 0,45 (PB). Pode-se observar que também existe deficiência de heterozigotos. Estes valores baixos de Ho podem ser esperados em espécies com predominância de

autogamia, já que grande parte dos seus *locos* são homozigotos (BURLE et al., 2010).

O estado que apresentou maior diversidade entre os genótipos coletados foi o Maranhão ($He=0,49$). Esse é um fato interessante já que dos quatro genótipos coletados nesse estado apenas três são do morfotipo a9 e um a3, mostrando que apesar de pouca diversidade morfológica apresentam grande diversidade genética. Com relação a riqueza alélica os genótipos do estado da Paraíba apresentaram o maior valor ($RA=3,15$). Deve-se observar que os critérios adotados para classificar os genótipos por morfotipos (cor principal e tamanho da semente) não foram adequados, uma vez que geneticamente os genótipos não se agrupam segundo a esse parâmetro.

Tabela 6. Estimativas da diversidade genética e coeficientes de endogamia de 42 genótipos de feijão-fava (*Phaseolus lunatus*), agrupados por estados.

Estado	%P	Na	Ne	RA	Ho	He
Piauí	100	2,38	1,79	2,35	0,02	0,43
Maranhão	100	2,38	2,00	2,38	0,07	0,49
Ceará	100	2,75	1,76	2,75	0,09	0,41
Pernambuco	100	2,50	1,89	2,45	0,06	0,41
Paraíba	100	3,25	1,95	3,15	0,11	0,45
Média	100	2,65	1,86	2,61	0,07	0,44

% P: porcentagem de *locos* polimórficos a 95%; Na: número de alelos; Ne: número de alelos efetivos; RA: riqueza alélica; Ho: heterozigosidade observada; He: heterozigosidade esperada.

A estimativa de diversidade para os 42 acessos agrupados, conforme a análise bayesiana realizada pelo STRUCTURE, mostrou que os acessos aglomerados dentro desses dois grupos apresentaram a média de Ho (0,046 para o grupo verde, e 0,110 para o grupo vermelho) inferior ao He (0,473 e 0,435 para os grupos verde e vermelho respectivamente), indicando redução no número de heterozigotos, como já era esperado (Tabela 7). O grupo verde apresentou o maior valor de riqueza alélica (RA) que o grupo vermelho. Os valores de RA, He são importantes medidas de diversidade, principalmente quando calculadas corrigindo as diferenças de amostragem. Dessa forma a riqueza alélica é um parâmetro preciso na comparação do nível de variabilidade genética entre genótipos e populações (LEBERG, 2002). É provável que a redução da heterozigosidade tenha ocorrido devido a ação antrópica sobre os genótipos avaliados. Isso pode ter ocorrido em decorrência de perda de

conhecimento associado ao cultivo da espécie, mudanças bruscas no manejo, seleção de genótipos tendo em vista as preferências de mercado.

Tabela 7. Estimadores de diversidade genética de 42 genótipos de feijão-fava agrupados com $k=2$, segundo a ancestralia de 70%.

F.V.	%P	Na	Ne	RA	Ho	He
Grupo verde	100	3,500	1,980	3,396	0,046	0,473
Grupo vermelho	100	3,250	1,918	3,250	0,110	0,435

% P: percentagem de *locos* polimórficos a 95%; Na: número de alelos; Ne: número de alelos efetivos; RA: riqueza alélica; Ho: heterozigosidade observada; He: heterozigosidade esperada.

4. Implicações para conservação e melhoramento

O entendimento dos níveis de diversidade e estrutura genética de genótipos de feijão-fava provenientes da região mais produtora do Brasil, o Nordeste brasileiro, é de extrema importância para fins de conservação e também para o futuro do melhoramento genético da espécie no país.

Tendo em vista que os genótipos desse estudo apresentaram altos níveis de diferenciação genética entre eles, não é possível priorizar a conservação de um genótipo em detrimento dos demais, uma vez que a constituição genética dos genótipos é diferenciada. Além disso, é necessário considerar o fato da espécie ser predominantemente autógama, ou seja, a maior parte dos indivíduos da população são homozigóticos. Dessa forma, o número de heterozigotos observados é menor, bem como os alelos que estão em baixa frequência. Assim sendo, é necessária uma ampla amostragem para se entender a diversidade existente no Brasil, poderá ser feito por meio de coletas mais representativas, e também pela adoção de estratégias viáveis de conservação *ex situ* da espécie.

A conservação da diversidade genética de genótipos tradicionais é fator essencial para o sucesso de um programa de melhoramento, já que estes são geneticamente mais heterogêneos podendo apresentar uma maior variedade de alelos responsáveis por defesas contra o surgimento de possíveis estresses bióticos e abióticos. Os genótipos que não têm valor de uso hoje podem passar a ter valor estratégico no futuro. Além disso, o entendimento dos níveis de diversidade genética pode guiar as hibridações nos programas de melhoramento genético da espécie. Considerando os genótipos deste trabalho, pode-se

conjecturar que caso sejam realizadas hibridações é possível que se obtenha um bom resultado, já que se pode observar diversidade entre os genótipos.

Os elevados níveis de estruturação genética entre os genótipos indicam uma redução da heterozigose ocasionado por um processo de deriva genética. Entretanto para confirmar a ocorrência do evento de deriva gênica é necessária a realização de análises mais específicas para a confirmação da ocorrência de um gargalo genético.

Agradecimentos

Os autores agradecem a Universidade Federal do Piauí, ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq-Brasil) pelo apoio financeiro desta pesquisa. A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio às bolsas de estudo. Ao Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA) na pessoa do Dr. Antônio Félix da Costa. Este trabalho foi realizado no Laboratório de Marcadores Moleculares da Universidade de Recursos Naturais do Centro de Investigação Científica de Yucatán (CICY), em especial a aluna de doutorado da Grecia Montalvo Fernández e ao técnico Jaime Alejandro Muñoz Lopez.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, A. U. et al. Emergência de plântulas de fava em função de posições e profundidades de semeadura. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 30, n. 1, p. 33-42, 2014.

AZEVEDO, J. N.; FRANCO, L. J. D.; ARAÚJO, R. O. C. **Composição química de sete variedades de feijão-fava**. Comunicado Técnico. Teresina: Embrapa Meio-Norte, p. 4, 2003.

BASSAM, B. J.; CAETANOANOLLÉS, G.; GRESSHOFF, P.M. Fast and sensitive silver staining of DNA in polyacrylamide gels. **Analytical Biochemistry**, v. 196, p. 80-83, 1991.

BAUDOIN, J. P. et al. Ecogeography, demography, diversity and conservation of *Phaseolus lunatus* L. in the central valley of Costa Rica. Systematic and ecogeographic studies on crop gene*pools*. **International Plant Genetic Resources Institute**, Rome, 2004.

BAUDOIN, J. P. et al. Development of an *in situ* conservation strategy for wild Lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) populations in the central valley of Costa Rica. In: OWENS, S. J.; RUDALL, P. J.; (eds) *Reproduction Biology*, **Royal Botanic Garden Press**, England, p. 417-426, 1998.

BURLE, M. L.; FONSECA, J. R.; KAMI, J. A.; GEPTS, P. 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, p. 801-813, 2010.

CAICEDO A. L. et al. AFLP fingerprinting of *Phaseolus lunatus* L. and related wild species from South America. **Crop Science**, v. 39, p. 1497–1507, 1999.

CAMACHO-PÉREZ, et al. Genetic structure of Lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) landraces grown in the Mayan area. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 65, p. 229-241, 2018.

CARUSO, G.; BROGLIA, V.; POCOVI, M. Diversidad genética. Importancia y aplicaciones en el mejoramiento vegetal. **Publicación del Instituto de Ecología y Ambiente Humano**, v. 4, n. 1, p.45-50, 2015.

CASTIÑEIRAS et al. AFLPs and morphological diversity of *Phaseolus lunatus* L. in Cuban home gardens: approaches to recovering the lost *ex situ* collection. **Biodiversity Conservation**, v. 16, p. 2847–2865, 2007.

DEBOUCK, D. G. Systematics and morphology. In: SCHOONHOVEN, A. VAN; VOYSEST, O. (Ed.) *Common beans: research for crop improvement*. Cali: **CIAT**. p. 55-181, 1991.

DELGADO-SALINAS, A. et al. Phylogenetic analysis of the cultivated and wild species of *Phaseolus* (Fabaceae). **Systematic Botany**, v. 24, p. 438-460, 1999.

DOYLE, J. J.; DOYLE, J. L. Isolation of plant DNA from fresh tissue. **Focus**, v. 12, p.13–15, 1987.

EARL, D. A.; VONHOLDT, B. M. Structure Harvester: a website and program for visualizing Structure output and implementing the Evanno method. **Conservation Genetics Resources**, v. 4, p.359–361, 2012.

EVANNO, G.; REGNAUT, S.; GOUDET, J. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. **Molecular Ecology**, v. 14, p. 2611–2620, 2005.

EXCOFFIER, L.; LAVAL, G.; SCHNEIDER, S. Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis. **Evolutionary Bioinformatics Online**, v.1, p.47–50, 2005.

FAO. The state of the world's plant genetic resources: diversity and erosion. Third World Resurgence. Farmers Rights and the Battle for Agrobiodiversity. Issue No. 72/ 73 KDN PP6738/1/96. **An excerpt from the Report on the State of the World's Plant Genetic Resources prepared by the FAO Secretariat for the International Technical Conference on Plant Genetic Resources at Leipzig**, Germany, 17–23, 1996.

FREYTAG, G. F., DEBOUCK, D. G. Taxonomy, Distribution, and Ecology of the Genus *Phaseolus* (Leguminosae-Papilionoideae) in North America, Mexico and Central America. **Botanical Research Institute of Texas (BRIT)**, Forth Worth, TX, USA. 2002, p. 298.

GOUDET, J. FSTAT, um programa para estimar e testar diversidade de genes e índices de fixação. Versão 2.9.3, 2001. Disponível em www.unil.ch/izea/software/fstat.html. Acesso em 21 jan. 2019.

GUIMARÃES, W. N. R.; MARTINS, L. S. S.; SILVA, E. F. Caracterização morfológica e molecular de genótipos de feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.). **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, PB, v. 11, n. 1, p. 37-45, 2007.

IBGE – **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**. Banco de dados agregados: pesquisa: produção agrícola municipal, 2016.

JARVIS, D. I. L. et al. A Training Guide for In Situ Conservation On-farm. Version 1. **International Plant Genetic Resources Institute**, Rome, Italy, 2000.

LEBERG, P. L. Estimating allelic richness: effects of sample size and bottlenecks. **Molecular Ecology**, v. 11, n. 11, p. 2445-2449, 2002.

LOPES, A. C. A.; GOMES, R. L. F.; ARAÚJO, A. S. F. A cultura do feijão-fava no Meio-Norte do Brasil. **EDUFPI**, Teresina, 2010.

MANTEL, N. The detection of disease clustering and a generalized regression approach. *Cancer Research*, **Birmingham**, v. 27, n. 2, p. 209-202, 1967.

MAQUET, A.; VEKEMANS, X. Z.; BAUDOIN, J. P. Phylogenetic study on wild allies of lima bean, *Phaseolus lunatus* (FABACEAE), and implications on its origin. **Plant Systematics and Evolution**, v. 218, n. 1-2, p. 43-54, 1999.

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

MARTÍNEZ-CASTILLO J. et al. Wholesale replacement of Lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) landraces over the last 30 years in northeastern Campeche, Mexico. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 59, p. 191-204, 2012.

MARTÍNEZ-CASTILLO, J. et al. Genetic structure within the Mesoamerican gene pool of wild *Phaseolus lunatus* (Fabaceae) from Mexico as revealed by microsatellite markers: implications for conservation and the domestication of the species. **American Journal of Botany**, v.101, p.851–864, 2014.

MONTERO-ROJAS et al. Genetic, morphological and cyanogen content evaluation of a new collection of Caribbean Lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) landraces. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 60, p. 2241–2252, 2013.

ORTEGA, S.V. Polinización cruzada natural de la caraota (*P. vulgaris* L.) en Venezuela. **Agronomía Tropical**, v. 24, p. 27–32, 1974.

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.

PENHA, J. S. et al. Estimation of natural outcrossing rate and genetic diversity in Lima bean (*Phaseolus lunatus* L. var. *lunatus*) from Brazil using SSR markers: implications for conservation and breeding. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 64, p.1355–1364, 2017.

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

RAFALSKI, J. A.; TINGEY, S. V. Genetic diagnostics in plant breeding: RAPDs, microsatellites and machines. **Trends in Genetics**. v. 9, p. 275-279, 1993.

R Core Team. **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2016. Disponível em: <https://www.R-project.org/>. Acesso em: 21 nov. 2017.

RUIZ-GIL, P. J. et al. Differentiation and genetic diversity of *Phaseolus lunatus* wild populations from Chiapas, Mexico, and their genetic relationships with MI and MII groups. **Botanical sciences**, v. 94, n. 4, p. 701-712, 2016.

SILVA, R. N. O. **Diversidade genética em feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.) por marcadores morfoagronômicos e moleculares**. 2011. 91f. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Federal do Piauí, Teresina.

SILVA, V. B. et al. Genetic diversity for lima bean samples. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, v. 54, p. 202-203, 2011.

SILVA, V. B. et al. Genetic diversity and promising crosses indication in lima bean (*Phaseolus lunatus*) accessions. **Semina: Ciências Agrárias, Londrina**, v. 36, n. 2, p. 683-692, 2015.

SILVA, V. B. et al. Phenotypic diversity in lima bean landraces cultivated in Brazil, using the Ward-MLM strategy. **Chilean Journal of Agricultural Research**, v. 77, p. 35-40, 2017.

VAN DE WOUW, M. et al. Genetic erosion in crops: concept, research results and challenges. **Plant Genetic Resources**, v. 8, p.1–15, 2010.

VAN OOSTERHOUT, C. et al. Microchecker: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. **Molecular Ecology Notes**, v.4, p.535-538, 2004.

VIEIRA, R. F. **A cultura do feijão-fava**. Informe Agropecuário, Belo Horizonte, v. 16, n. 174, p. 30-37, 1992.

WEBSTER, B. D., LYNCH, S. P.; TUCKER, C. L. A morphological study of the development of reproductive structures of *Phaseolus lunatus* L. **Journal of the American Society for Horticultural Science** v. 104, p. 240-243, 1979.

ZEINALABEDINI, M. et al. Molecular variability and genetic relationship and structure of Iranian Prunus rootstocks revealed by SSR and AFLP markers. **Scientia Horticulturae**, v.172, p.258-64, 2014.

ZORO BI, I.; MAQUET, A.; BAUDOIN, J. P. Mating system of wild *Phaseolus lunatus* L. and its relationships with population size. **Heredity**, v. 94, n. 2, p. 153–158, 2005.

CAPÍTULO II - Erosão genética do feijão-fava (*Phaseolus lunatus*) no Nordeste do Brasil do período de 1980 a 2016

Resumo

O feijão-fava (*Phaseolus lunatus*) é depois do feijão-comum (*Phaseolus vulgaris* L.), a espécie cultivada mais importante do gênero *Phaseolus* no mundo. O feijão-fava apresenta elevados níveis de diversidade genética que se refletem em uma alta riqueza de landraces cultivados por agricultores que praticam a agricultura tradicional. A perda da variabilidade genética pode provocar sérias consequências à sobrevivência de espécies cultivadas como o feijão-fava, podendo implicar diretamente na segurança alimentar de milhares de agricultores tradicionais no Nordeste do Brasil. Portanto, o objetivo do presente estudo foi avaliar a possível ocorrência de erosão genética em genótipos cultivados de feijão-fava (*Phaseolus lunatus*) coletados entre 1980 e 2016 na região Nordeste do Brasil. No geral, houve um déficit de heterozigosidade observada (H_o) em relação a heterozigosidade esperada (H_e) para os dois anos de coleta, indicando perda de variabilidade genética. Os valores do índice Garza-Williamson abaixo de 0,68 e os resultados gerados pelo software Bottleneck deram indícios de que os genótipos pertencentes aos grupos coletados nos dois anos podem ter sofrido gargalo genético, o que indica provável perda de variabilidade ou erosão genética ocasionado pela aparente deriva genética. Porém, ao confrontar os valores de H_e , houve um aumento nos níveis de diversidade genética do período de 2016 com relação a 1980, o que pode ser indicativo de um início de recuperação, já que o efeito gargalo ainda permaneceu até aquele ano.

Palavras-chave: diversidade genética, microssatélite, gargalo genético, *lima bean*

1. Introdução

O feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.), é uma espécie domesticada considerada a mais importante do gênero *Phaseolus* depois do feijão-comum (*Phaseolus vulgaris* L.), é uma leguminosa tropical caracterizada pelo elevado nível de diversidade, como observado em estudos morfológicos, bioquímicos e mais recentemente por meio de técnicas moleculares (LIOI; GALAZO, 2002; MARTÍNEZ-CASTILLO et al., 2014; PENHA et al., 2017; SILVA et al., 2017).

No Brasil, o feijão-fava é preferencialmente cultivado na região Nordeste, onde é amplamente consumido e possui maior importância econômica. Também assume papel importante por representar fonte renda e proteína vegetal de qualidade para a população, além de reduzir a dependência ao feijão-comum (*P. vulgaris*) e feijão-caupi (*Vigna unguiculata*). Tradicionalmente o núcleo produtivo do feijão-fava no Brasil é composto principalmente por produtores familiares. O

que torna a espécie mais relevante quando se considerada a segurança alimentar e nutricional das comunidades rurais (ALVES et al., 2014; AZEVEDO; FRANCO; ARAÚJO, 2003; CARVALHO, 2012; VIEIRA, 1992).

A diversidade genética de uma dada espécie pode ser conceituada como o conjunto total de alelos existentes formados a partir de mutações na sequência nucleotídica do DNA ao longo do processo evolutivo, gerando uma variedade de genótipos. A ampla variabilidade genética de uma espécie é imprescindível, pois garante o potencial evolutivo necessário para sua sobrevivência e adaptação às mais variadas condições ambientais (BRUSH, 1999; DEBNATHAN, 2016).

O decréscimo da diversidade genética também chamada de erosão genética pode ser conceituada como a perda de sequências genéticas particulares (alelos ou genes raros), assim como a perda de variedades, populações ou mesmo de espécies (BEARDMORE, 1983; JARVIS et al., 2000; NORGAARD; SIKOR, 1997). Maxted; Guarino (2006) sugeriram que a erosão genética também pode ser definida como uma "redução permanente da riqueza de alelos locais ao longo do tempo em uma área definida".

O processo de erosão genética pode provocar sérias consequências a curto e logo prazo, atingindo a capacidade de sobrevivência média de gerações futuras, devido a vulnerabilidade genética (BROWN et al., 1997; JAQUIERY et al., 2009). A perda de diversidade genética afeta o potencial evolutivo de espécies, ocasionando a redução da capacidade de se adaptar a mudanças ambientais, aumentando assim a possibilidade de extinção (MARTÍNEZ-CASTILLO et al., 2016; BEARDMORE, 1983).

As principais causas da erosão genética de espécies cultivadas estão relacionadas a mudanças climáticas, degradação ambiental, desastres naturais, efeitos da urbanização, mudanças nas práticas agrícolas tradicionais, substituição de variedades tradicionais por cultivares melhoradas (RICHARDS; RUIVENKAMP, 1997).

Muitos dos fatores que promovem a perda de variabilidade têm ocorrido por influência direta da urbanização de grandes áreas, além da crescente demanda por alimentos. No entanto, para suprir essa demanda, tem-se cobrado um preço alto: a perda de genótipos tradicionais (ESQUINAS-ALCAZAR, 2005). Esse processo pode estar ligado a seleção dirigida pela demanda de mercado. Como foi constatado por Debnath (2016), no qual observou que algumas

variedades crioulas de frutas vermelhas (morango - *Fragaria* x *ananassa* Duch., mirtilo - *Vaccinium corymbosum* L., amora - *Vaccinium macrocarpon* Ait., uvas - *Vitis* spp., framboesa - *Rubus idaeus* L. e amora - *Rubus* spp.), foram abandonadas por agricultores, que estavam mais interessados em genótipos que apresentassem elevada produção e frutos com alto valor de mercado e que atendessem as demandas dos consumidores.

A preservação por meio do uso dos genótipos por pequenos agricultores é extremamente importante para a manutenção de espécies cultivadas, e só recentemente vem recebendo “status” de conservação, podendo ser chamada de conservação *on farm*. Os genótipos mantidos pelos agricultores são considerados úteis para o melhoramento genético, aja vista que possuem uma vasta gama de genes desejáveis pré-selecionados empiricamente pelos agricultores regionais que as cultivam ao longo dos anos (BERENTSEN, et al., 2007; HOLUBEC; VYMYSLICKÝ; F. PAPERŠTEIN, 2010).

O monitoramento da erosão genética referente à fração agrícola, necessita de uma gestão humana mais ativa e constante, uma vez que a diversidade agrícola está diretamente ligada ao homem, além de representar valor inestimável atual ou potencial para o desenvolvimento agrícola e sustentabilidade alimentar da humanidade (GONZÁLEZ-GUTIÉRREZ, 2006; FAO, 1996).

Estudos de erosão genética do feijão-fava têm sido realizados principalmente no México, local considerado um centro de domesticação da espécie. Segundo Martínez-Castillo et al. (2012), os marcadores microsatélites têm se mostrado úteis em estudos de erosão genética, estrutura e diversidade em plantas cultivadas como o feijão-fava (MARTÍNEZ-CASTILLO et al., 2004; 2008; 2012).

O objetivo do presente estudo foi avaliar a possível ocorrência de erosão genética em genótipos cultivados de feijão-fava (*Phaseolus lunatus*) coletados entre 1980 e 2016 na região Nordeste do Brasil.

2. Material e Métodos

Material vegetal

Foram coletados 54 genótipos de feijão-fava em propriedades de agricultores tradicionais nos estados do Ceará (N=12), Maranhão (N=4), Paraíba

(N=16), Pernambuco (N=9) e Piauí (N=13), no período de 2014 a 2016 e no ano de 1980 (Figura 6). Esses estados foram escolhidos por apresentarem as maiores produções de feijão-fava segundo o IBGE (2016). Para estimar a erosão genética foi comparado dois grupos de genótipos: os coletados no período de 1980 (N=12) e os do período 2014 a 2016 (N=42). OS 12 genótipos coletados no período de 1980 foram disponibilizados para esse estudo pelo Banco Ativo de Germoplasma da Universidade Federal de Pernambuco e são provenientes dos estados do Ceará, Paraíba e Piauí (Tabela 8).

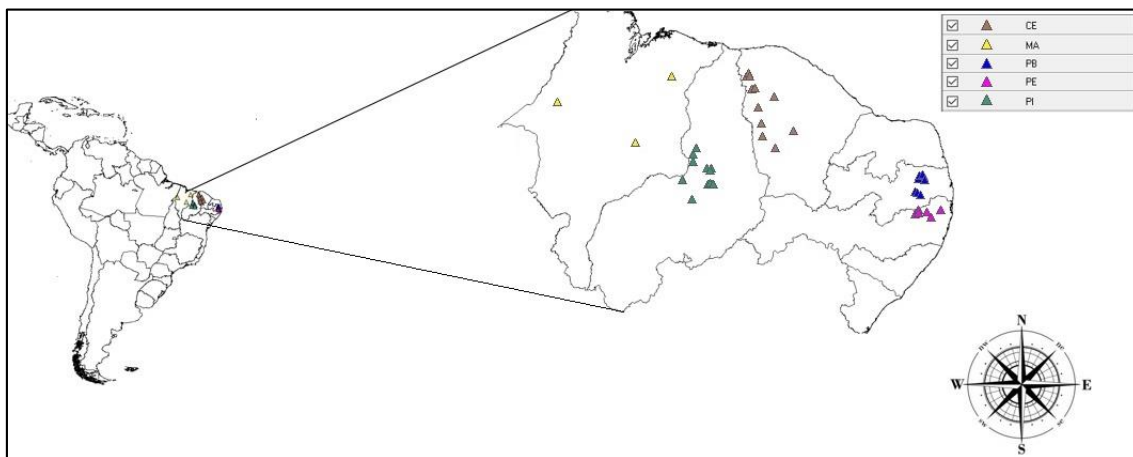


Figura 6. Pontos de coleta dos 54 genótipos de feijão-fava (*Phaseolus lunatus*) coletados nos estados do Ceará, Maranhão, Pernambuco, Paraíba e Piauí.

Tabela 8. Identificação, dados geográficos e morfotipos de 54 genótipos de feijão-fava do Nordeste do Brasil.

Genótipos	Estado	Cidade	Latitude	Longitude	Data de coleta	Morfotipo
UFPI 804	PI	Angical do Piauí	6°05'49,2"S	42°44'27,6"O	08/2014	A1
UFPI 807	PI	Amarante	6°20'31,2"S	42°44'49,2"O	08/2014	A2
UFPI 810	PI	Água Branca	5°55'26,4"S	42°37'33,6"O	08/2014	A3
UFPI 827	PB	Araras	6°53'13,2"S	35°41'31,2"O	09/2016	A4
UFPI 828	PB	Araras	6°53'49,2"S	35°46'19,2"O	09/2016	A5
UFPI 847	PB	Serraria	6°49'26,4"S	35°39'07,2"O	09/2016	A6
UFPI 849	PB	Serraria	6°49'26,4"S	35°39'07,2"O	09/2016	A7
UFPI 844	PB	Serraria	6°50'45,6"S	35°37'58,8"O	09/2016	A3
UFPI 862	CE	Crateús	5°11'56,4"S	40°39'43,2"O	10/2015	A6
UFPI 866	CE	São Benedito	4°05'38,4"S	40°55'01,2"O	10/2016	A5
UFPI 868	CE	Tatuá	5°54'07,2"S	40°13'22,8"O	10/2015	A6
UFPI 873	PB	-	-	-	2014	A8
UFPI 889	MA	Paraibano	5°45'36,0"S	44°28'51,6"O	07/2015	A9
UFPI 892	PI	São Gonçalo	6°38'06,0"S	42°10'26,4"O	2015	A3
UFPI 893	PI	São Gonçalo	6°38'06,0"S	42°10'19,2"O	2015	A1
UFPI 987	PB	Fagundes	4°07'26,4"S	40°56'31,2"O	2015	A10
UFPI 902	CE	São Benedito	3°45'00,0"S	43°22'44,4"O	07/2016	A5
UFPI 922	MA	Chapadinha	6°33'43,2"S	42°17'56,4"O	2014	A3
UFPI 923	PI	Tanque	7°51'25,2"S	35°47'13,2"O	2015	A1
UFPI 928	PE	Surumbi	7°49'19,2"S	35°48'39,6"O	07/2016	A11
UFPI 929	PE	Surumbi	6°33'00,0"S	42°10'08,4"O	09/2016	A12
UFPI 946	PI	Várzea Grande	7°52'22,8"S	35°14'24,0"O	09/2016	A1
UFPI 957	PE	-	-	-	07/2016	A4
UFPI 976	CE	Tianguá	7°21'39,6"S	35°47'13,2"O	07/2016	A12
UFPI 988	CE	Tianguá	5°25'19,2"S	39°40'30,0"O	07/2016	A14
UFPI 997	CE	Tianguá	3°40'15,6"S	41°10'40,8"O	07/2016	A3
UFPI 998	CE	Tianguá	3°43'55,2"S	41°02'31,2"O	07/2016	A5
UFPI 1002	PE	Passira	8°00'57,6"S	35°30'39,6"O	09/2016	A9

Continua

Continuação

UFPI 1003	PE	João Alfredo	7°51'54,0"S	35°36'43,2"O	09/2016	A13
UFPI 1004	PE	Santa Maria do Cambucá	7°49'37,2"S	35°55'01,2"O	09/2016	A8
UFPI 1005	PE	Santa Maria do Cambucá	7°49'08,4"S	35°54'39,6"O	09/2016	A7
UFPI 1006	PE	Santa Maria do Cambucá	7°46'51,6"S	35°52'30,0"O	09/2016	A9
UFPI 1007	PE	Santa Maria do Cambucá	7°55'22,8"S	35°48'36,0"O	09/2016	A12
UFPI 1010	PB	Queimadas	7°20'20,4"S	35°51'07,2"O	09/2016	A15
UFPI 1012	PB	Queimadas	7°20'20,6"S	35°51'03,6"O	09/2016	A12
UFPI 1014	PB	Queimadas	7°17'52,8"S	35°51'50,4"O	09/2016	A6
UFPI 1015	PB	Queimadas	7°18'36,0"S	35°54'00,0"O	09/2016	A3
UFPI 1016	PB	Solânea	6°48'00,0"S	35°45'07,2"O	09/2016	A5
UFPI 1017	PB	Solânea	6°47'34,8"S	35°45'57,6"O	09/2016	A3
UFPI 1021	PB	Arreia	6°52'37,2"S	35°48'32,4"O	09/2016	A12
UFPI 1109	MA	São Domingos	5°45'00,0"S	44°27'57,6"O	11/2016	A9
UFPI 1113	MA	Bom Jesus das Selvas	4°31'15,6"S	46°51'21,6"O	11/2016	A9
UFPI 1155	CE	-	-	-	1980	A8
UFPI 1157	CE	-	-	-	1980	A16
UFPI 1159	CE	-	-	-	1980	A16
UFPI 1161	CE	-	-	-	1980	A16
UFPI 1163	PB	-	-	-	1980	A6
UFPI 1164	PB	-	-	-	1980	A6
UFPI 1165	PI	Floriano	6°50'56,4"S	43°02'56,4"O	03/1980	A9
UFPI 1166	PI	Oeiras	7°03'39,6"S	42°12'18,0"O	07/1980	A2
UFPI 1167	PI	Oeiras	7°02'20,4"S	42°08'06,0"O	07/1980	A2
UFPI 1168	PI	Oeiras	6°59'24,0"S	42°07'51,6"O	07/1980	A1
UFPI 1169	PI	Oeiras	6°59'49,2"S	42°08'31,2"O	07/1980	A2
UFPI 1170	PI	Oeiras	7°03'07,2"S	42°06'36,0"O	07/1980	A11

Extração do DNA

Essa etapa foi realizada no Laboratório de Biologia Molecular do Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal do Piauí (UFPI), o DNA foi extraído e purificado a partir de dez sementes por genótipo, seguindo o protocolo CTAB, descrito conforme a metodologia de Doyle; Doyle (1987) modificado.

A qualidade do DNA extraído foi verificada em eletroforese de gel de agarose a 0,8%, coradas com GelRed® e comparadas com diferentes concentrações de DNA padrão lambda. A quantificação foi realizada no espectrofotômetro de DNA NanoDrop™ 2000. As amostras foram diluídas para a concentração final de 40 ng/μL.

Amplificação dos microssatélites

As análises de amplificação dos *locos* microssatélites foram realizadas no Laboratório de Marcadores Moleculares do Centro de Investigación Científica de Yucatán, Mérida, Yucatán, México. Para a caracterização molecular, testou-se 15 *primers* de microssatélite de *P. vulgaris*, Gaitán et al. (2002), com apenas oito *locos* polimórficos.

As reações de amplificação para os oito *loco* (Tabela 9) com adição de 20 μl para a Reação em Cadeia de Polimerase em volume (PCR), consistindo em tampão de PCR 10X, 50 mM de MgCl₂, mix de 10mM de dNTP, 10 mM de cada iniciador (*forward* e *reverse*), 5 u/μl de polimerase de Taq e 40 ng de DNA. O programa de PCR consistiu em 35 ciclos, cada um, sendo: desnaturação de 15 segundos a 94 °C, alinhamento de 15 segundos dependendo da temperatura de dos iniciadores empregados, e a extensão de 15 segundos a 72° C e uma extensão final de 5 minutos a 72° C.

A amplificação por PCR foi realizada em um sistema de PCR de termociclador GeneAmp 9700 (*Applied Biosystems*, Foster City, EUA). Um volume de 5 μL de formamida contendo 0,45% de azul de bromofenol e 0,25% de xileno cianol foi adicionado ao produto de PCR e foi desnaturado durante um período de 5 min a 94 ° C, depois carregou-se 5 μL deste produto da reação em 5% de poli(acrilamida) géis (acrilamida-bis(acrilamida) 19: 1) contendo ureia 5 M e tampão EDTA (TBE) Tris-borato 0,5X (TBE).

A eletroforese foi realizada em cubas verticais a uma potência constante de 40 W durante 1 hora e 50 (sequenciador SQ3, *Hoeffer Scientific Instruments*,

San Francisco, CA). Os produtos de amplificação foram visualizados com a técnica de coloração de prata (BASSAM et al., 1991). O tamanho do fragmento foi determinado visualmente em pares de bases (pb), utilizando como referência um marcador molecular de 10 pb.

Tabela 9. Características dos oito *locos* microssatélites utilizados na caracterização molecular de 54 genótipos de *Phaseolus lunatus* cultivadas no Nordeste do Brasil.

<i>Loco</i>		Sequência dos <i>primers</i>	Repetição do <i>motif</i>	Ta°C	Tamanho observado (pb)
AG1	F	5'- CATGCAGAGGAAGCAGAGTG -3'	(GA) ₈ GGTA(GA) ₅	52	132-154
	R	5'- GAGCGTCGTCGTTTCGAT -3'			
BM 140	F	5'- CCTACCAAGATTGATTTATGGG -3'	(GA) ₃₀	55	164-184
	R	5'- TGCACAACACACATTTAGTGAC -3'			
BM 143	F	5'- ATGTTGGGAACTTTTAGTGTG -3'	(GA) ₃₅	55	143-169
	R	5'- GGGAAATGAACAGAGGAAA -3'			
BM 154	F	5'- CTGAATCTAGGAACGATGACCAG -3'	(CT) ₁₇	50	190-196
	R	5'- TCTTGCGACCGAGCTTCTCC -3'			
BM156	F	5'- CTTGTTCCACCTCCCATCATAGC -3'	(CT) ₃₂	52	219-225
	R	5'- TGCTTGCATCTCAGCCAGAATC -3'			
BM 164	F	5'- CCACCACAAGGAGAAGCAAC -3'	(GT) ₉ (GA) ₂₁	52	142
	R	5'- ACCATTCAGGCCGATACTCC -3'			
BM 170	F	5'- AGATAGGGAGCTGGTGGTAGC -3'	(CT) ₅ CCTT(CT) ₁₂	50	167-175
	R	5'- AGCCAGGTGCAAGACCTTAG -3'			
BM 211	F	5'- ATACCCACATGCACAAGTTTGG -3'	(CT) ₁₆	52	194-224
	R	5'- CCACCATGTGCTCATGAAGAT -3'			

Análise dos dados

A diversidade genética foi estimada a para os genótipos coletados no período de 2014-2016 nos estados do CE, PE e PI e também para os genótipos coletados no período de 1980-1983 nos mesmos estados. A percentagem de *locos* polimórficos (% P), heterozigosidade observada (H_o) e heterozigosidade esperada (H_e), número médio de alelos por *loco* (N_a), número de alelos e o número de alelos efetivos (N_e) foram estimados usando o software GENALEX 6.5 (PEAKALL; SMOUSE, 2012). A riqueza alélica (RA) padronizada é uma medida de variação genética do número médio de alelos por *loco*, entretanto, com a padronização esta passa a ser independentemente do tamanho da amostra, o que permite comparar amostras com diferentes tamanhos, sem perder a precisão. A riqueza alélica (RA) foi calculada com o programa FSTAT 2.9.3 (GOUDET, 2001).

Para avaliar a existência de possível redução na diversidade genética como resultado de gargalos genéticos, se aplicaram os métodos: 1) o índice Garza-Williamson (G-W) (GARZA; WILLIAMSON, 2001), que calcula a razão média do número de alelos em um determinado *loco* com relação à faixa de tamanho do alelo. Estudos mostraram que o índice é maior que 0,82 para grupos de indivíduos que não sofreram uma redução conhecida no tamanho seu tamanho e menos que 0,70 para aqueles que sofreram um gargalo genético recente (Garza e Williamson, 2001). Este índice foi estimado utilizando o programa Arlequin v. 3.5 (EXCOFFIER et al., 2005). 2) o programa Bottleneck. Para cada genótipo e para cada *loco*, o programa Bottleneck calcula a distribuição da diversidade genética esperada a partir do número observado de alelos (k), dado o tamanho da amostra (n) sob a hipótese de equilíbrio mutação-deriva (LUIKART; CORNUET 1998; LUIKART et al., 1998a). Para isso foi realizado o teste unilateral *Wilcoxon signed rank*, com o emprego de 1000 interações com uso dos modelos de mutação. O modelo IAM (Infinite Alleles Model) que pode ser entendido como o modelo de mutação de alelos infinitos em que cada nova mutação leva a um novo alelo na população (e todos os alelos são considerados igualmente diferentes um do outro) (variância=12, probabilidade=95%). Enquanto no modelo (IAM), cada mutação gera um novo alelo, no modelo de mutação por passos (SMM) (Stepwise Mutation Model) cada mutação pode reduzir ou aumentar o tamanho de um alelo em uma unidade de

repetição. Foi realizada uma análise no software SPAGeDi (HARD; VEKEMANS, 2002) com o intuito de descobrir qual o modelo mutacional, nos quais os *locos* analisados mais se adequaram.

A análise de variância molecular (AMOVA) foi calculada por meio do software Arlequin versão 3.5 (EXCOFFIER et al., 2005).

Os 54 genótipos foram classificados em 17 morfotipos conforme os caracteres cor principal e tamanho da semente. Em seguida para maior efeito de acurácia na comparação entre os dois grupos temporais foi realizada a análise no software Bottleneck considerando somente os mesmos morfotipos encontrados nos dois grupos temporais, afim de reduzir o erro amostral.

3. Resultados e Discussão

Foi encontrado um total de 27 alelos, com média de 3,37 por *loco*. Os *primer* BM143 mostrou o maior número de alelos (5 alelos diferentes), com alcance de cinco (BM143) a dois alelos (AG1 e BM164) dentre todos os *primers* analisados.

Para entender como se apresentou a estrutura genética dos grupos temporais foi realizada uma análise de variância molecular (AMOVA), que revelou diferenciação entre grupos (1980 vs 2014 - 2016) entretanto a maior parte da variação total pode ser encontrada entre genótipos dentro de anos (Tabela 10).

Apesar da diferenciação entre anos ser moderada, ela leva em consideração as diferenças na composição alélica de cada ano. Dessa forma, pode-se entender embora mais de três décadas tenha se passado, não houve grande mudança no conjunto gênico, a ponto de que tenha ocorrido elevada frequência de alelos específicos em cada ano (Tabela 10).

Uma explicação plausível é que os agricultores cultivavam os mesmos genótipos por um longo período de tempo, e somente mais recentemente intensificaram o cultivo de alguns genótipos para atender a demanda do mercado. Isso fez com que a variabilidade genética tenha sido conservada, e que por esse motivo não ocorreu uma elevada diferenciação entre os grupos temporais. Situação semelhante foi observada por Maras et al. (2006), que estudando as mudanças na diversidade alélica de germoplasma de feijoeiro (*P. vulgaris*) ao longo do período de 1800 e 2000, observaram que apenas uma

pequena proporção (6,5%) da variação total pode ser explicada pela diferenciação entre os grupos temporais de acessos.

Tabela 10. Análise de variância molecular hierárquica (AMOVA) e índices de diversidade F (WEIR; COCKERHAM, 1984).

Fonte de Variação	N	SQ	CV	% de variação	Índices fixação	P-valor
2014 - 2016 e 1980 (Entre grupos)	54	68,500	0,202	10,46	0,104	0,003*
Entre genótipos dentro de grupos	42	1068,270	1,189	61,65	0,721	0,000*
Dentro de genótipos	12	459,620	0,538	27,89	0,688	0,000*
Total		1596,390	1,929			

SQ: soma dos quadrados; CV: componentes de variação.

O número de alelos efetivos (N_e) teve uma variação de dois e três para os grupos temporais 1980 e 2014 – 2016 (Tabela 11). Esses resultados indicam uma leve diferença na composição dos alelos para cada conjunto gênico, ou seja, pode ter ocorrido alteração na composição alélica de um período a outro. Martínez-Castillo et al. (2012) analisaram as mudanças temporais na diversidade genética de acessos de *P. lunatus* cultivadas entre 1979 e 2007 no Nordeste do Campeche, México, e notaram que, durante o período de estudo, o número de alelos e o número de alelos únicos que inicialmente estavam presentes, mudou durante o cultivo do feijão-fava nessa região. Ainda segundo Martínez-Castillo et al. (2012), essa mudança pode ter ocorrido em consequência da intensificação da agricultura Maya e da introdução de variedades melhoradas.

Os valores de heterozigosidade observada (H_o) foram inferiores aos valores de heterozigosidade esperada (H_e) para os dois grupos temporais ($p < 0,01$), indicando deficiência de heterozigotos (ou excesso de homozigotos) (Tabela 11). O valor de H_e médio para todos os *locos* de todos os morfotipos encontrados do Nordeste do Brasil analisados pode ser considerado relativamente baixo se comparados com aqueles reportados por PENHA et al. (2017), que encontraram valores variando de 0,16 a 0,78 e um valor médio de H_e de 0,60. Também se pôde observar que o valor de H_e para o grupo temporal 2014 - 2016 ($H_e = 0,507$, $p < 0,01$) foi superior ao do grupo temporal 1980 ($H_e = 0,210$, $p < 0,01$). O mesmo aconteceu para os valores da riqueza alélica,

RA=3,128 para 2014 – 2016 e 2,122 para os genótipos coletados em 1980, podendo indicar um aumento nos níveis de diversidade genética (Tabela 11).

O aumento dos níveis de diversidade que ocorreu de 1980 a 2016, pode estar fortemente relacionado interesse dos agricultores no cultivo do feijão-fava na região Nordeste do Brasil durante o período, associado ao aumento no valor comercial do grão na última década (IBGE 2017).

Além disso, os agricultores realizaram sucessivos intercâmbios de genótipos com o objetivo de atender a preferência dos consumidores e de encontrar os mais produtivos e adaptados às diversas condições edafoclimáticas por toda região Nordeste do Brasil. Como no Brasil não existem genótipos melhorados que possam atender a essa demanda, conseqüentemente, os genótipos utilizados pelos agricultores consistem-se de variedades locais não melhorados. Dessa forma, é possível entender a ocorrência de uma pequena elevação nos níveis de diversidade entre os genótipos coletados no grupo temporal 2014 – 2016 em relação aos coletados em 1980.

O índice de Garza-Williamson (G-W) apresentou valores inferiores a 0,68 para os dois grupos temporais (Tabela 11), sugerindo que os genótipos pertencentes a esses grupos podem ter sofrido um gargalo genético populacional recente. Este fenômeno poderia aumentar as chances de que a ocorrência da deriva genética promova uma maior diferenciação entre populações de genótipos e mesmo uma diminuição da diversidade genética. Entretanto, apesar de inferiores a 0,68, foi possível perceber um aumento no valor do índice para o grupo temporal 2014 - 2016 (0,346) com relação a 1980 (0,241). Além disso, como já comentado, o teste t demonstrou que os genótipos coletados no período de 2014 – 2016 apresentaram valores de H_e significativamente mais altos que os genótipos coletados em 1980. Esses resultados podem ser um indicativo da recuperação de um gargalo genético que pode ter se originado no passado, levando a um aumento na diversidade após o evento de erosão genética.

Tabela 11. Estimativas da diversidade genética e coeficientes de endogamia de entre grupos de genótipos cultivados de *Phaseolus lunatus*.

		P%	Na	Ne	RA	Ho	He	G-W
<i>Pool</i> gênico total	54	38,19	1,407	1,228	2,625	0,206	0,458	0,157
<i>Grupos temporais</i>								
2014 - 2016	42	100	3,375	2,094	3,128	0,068	0,507**	0,346
1980	12	87,50	2,125	1,334	2,122	0,057	0,210**	0,241

** Significativo a 1% pelo teste T pareado ($p < 0,01$); % P, percentagem de *locos* polimórficos a 95%; Na, número de alelos; Ne, número de alelos efetivos; RA: riqueza alélica; Ho, heterozigiosidade observada; He, heterozigiosidade esperada; Índice G-W, Garza-Williamson modificado

O número médio de indivíduos analisados por *loco* (variou de 47,8 a 66,8) excedeu em abundância o número mínimo de 15 a 40 recomendável para obter uma confiabilidade do teste de sinais de Wilcoxon (dados não apresentados). Além disso, o número de *locos* polimórficos foi de oito, superior ao mínimo exigido de cinco *locos* polimórficos exigidos para uma maior precisão do teste de sinais de Wilcoxon (LUIKART; CORNUET, 1998).

O programa Bottleneck apontou provável efeito de gargalo genético para os dois grupos temporais (1980 e 2014 – 2016), com base nos valores de OHe (número de *locos* observado com excesso de heterozigiosidade) superiores a EHexc (números esperados de *locos* com excesso de heterozigiosidade esperada quando em equilíbrio de mutação-deriva) para os dois modelos de mutação para o teste de Sign. Apesar de que no grupo temporal 1980 não houve efeito significativo para nenhum modelo (Tabela 12). Mesmo o programa Bottleneck não mostrando significância para o grupo de 1980, por meio do índice G-W sugere-se que esses resultados podem ser um indicativo de início de recuperação da erosão genética que pode ter iniciado na década de 1980 (Tabelas 11 e 13).

Também se observou a possível ocorrência de gargalo genético recente para o *pool* gênico do grupo temporal de 2014 - 2016. Os números esperados de *locos* com excesso de heterozigiosidade esperada quando em equilíbrio de mutação-deriva (EHexc) foram de 3,74 (IAM) e 4,37 (SMM) que foram substancialmente menores para os dois modelos de mutação que os números de *locos* com excesso de heterozigiosidade esperada quando em Equilíbrio de Hardy-Weinberg (Tabela 12). No entanto, apenas para o modelo mutacional IAM foi significativo ($p < 0,05$).

Como as análises feitas no programa SPAGEDI revelaram que a maioria dos *locos* se ajustaram melhor ao modelo de mutação IAM, provavelmente tenha ocorrido algum gargalo recente com possível deriva genética no período de 2014 - 2016. Esse resultado indica que os dados apresentados neste trabalho se adequem mais ao modelo IAM para o Teste de Sign, portanto para esse teste, obedecendo o modelo IAM, foi rejeitada a hipótese nula de que, o *pool* gênico está sob o equilíbrio de mutação-deriva, ou seja, os dados revelam que houve excesso heterozigotos nesses grupos em um número significativo de *locos*, sendo assim, pode ter ocorrido gargalo genético para os genótipos coletados em 2014 - 2016.

Os valores de probabilidade encontrados pelo teste de Wilcoxon foram significativos ($p < 0,001$) apenas para o modelo IAM (0,00195), e não significativo para o modelo SMM (0,12500) no grupo temporal mais recente (Tabela 12). Assim, a hipótese nula de equilíbrio de mutação-deriva foi rejeitada no teste de Wilcoxon para o modelo IAM. Esses resultados são indicativos de que o excesso heterozigosidade genética pode estar atrelada a um gargalo genético recente.

Tabela 12. Testes de Sign e teste de sinais de Wilcoxon para o excesso de heterozigose em grupos de genótipos cultivados em *Phaseolus lunatus*.

Grupos temporais	IAM			SMM		
	Teste de Sign		Teste de Wilcoxon	Teste de Sign		Teste de Wilcoxon
	OHe	EHexc	P	OHe	EHexc	P
2014 – 2016	8	3,74*	0,001	6	4,37	0,125
1980	4	2,92	0,406	4	3,37	0,71

EHexc: número de *locos* esperado com excesso de heterozigosidade no modelo de mutação-deriva; OHe: número de *locos* observado com excesso de heterozigosidade; p: probabilidade de não haver excesso significativo de heterozigosidade. Valores significativos de probabilidade a 5% estão em negrito.

Em *pools* gênicos no qual se observa um gargalo genético verifica-se naturalmente uma redução do número de alelos e da diversidade genética (H_e - heterozigosidade no equilíbrio de Hardy-Weinberg) em *locos* polimórficos. Entretanto, a redução do número de alelos ocorre mais rapidamente que a redução da diversidade genética. Essa diferença se dá porque um gargalo genético elimina os alelos de baixa frequência, enquanto os alelos remanescentes podem existir em uma frequência intermediária. Se a frequência de um alelo é intermediária, isso contribui consideravelmente para a

heterozigiosidade. Assim, em um dado *pool* gênico que sofreu um gargalo genético recente, a diversidade genética observada (H_E em EHW) é maior que a diversidade genética esperada em equilíbrio mutação-deriva (LUIKART; CORNUET, 1998).

Além do que, o método de produção utilizado pelos agricultores pode ter mudado ao longo das décadas, e possivelmente o manejo das técnicas agrícolas realizados na década de 1980 era mais simples, com menor utilização de tecnologias aplicadas atualmente. Isso pode ter contribuído no primeiro momento para a ocorrência de erosão genética nesse período, apesar de não ter favorecido para o aumento do nível de variabilidade genética. Entretanto, como a exigência de mercado aumentou nos últimos anos, é possível que para incrementar a produção, os agricultores tenham adotado novas técnicas de manejo, e isso tenha favorecido, de certa forma, o aprofundamento do efeito gargalo genético e consequente deriva genética. No entanto, as constantes introduções de genótipos advindos de outras localidades, pela busca por genótipos promissores, podem ter garantido um aumento no grau de diversidade genética.

A substituição gradual de variedades tradicionais em uma dada área por genótipos mais promissores, de maior valor comercial ou até por cultivares melhoradas pode resultar em um processo de erosão genética, como observado por Megersa (2014) estudando a erosão genética de cevada, e Bareke; Asfaw (2018) estudando o processo de perda de diversidade genética em feijão-comum. Esses autores observaram que a substituição gradual de variedades tradicionais por genótipos com características agronômicas e econômicas superiores, pode promover o processo de erosão genética. Em um primeiro momento observaram que a introdução de genótipos em uma dada área contribuiu para aumentar a diversidade total, entretanto, com a continua substituição, aumentou a contribuição dos genótipos introduzidos para a diversidade total, enquanto a contribuição das variedades tradicionais mostrou-se cada vez menor. Isso pode resultar diretamente na perda de diversidade genética local.

Por meio da comparação entre os dois grupos temporais, observou-se que não ocorreu o processo erosão genética nos 12 genótipos coletados na década de 1980, entretanto, quando esses dados são comparados com as

informações dos 42 genótipos coletados no período de 2014 - 2016, pode-se perceber uma pequena elevação da diversidade genética, e que mesmo apesar do aumento do leve aumento da H_e , pode estar ocorrendo um processo de erosão genética (Tabelas 11 e 13). Uma vez que como já citado, a redução do número de alelos ocorre mais rapidamente que a redução da diversidade genética.

Ao considerar os mesmos morfotipos para os dois períodos (a1, a2, a6, a8, a9 e a11), pôde-se observar que não houve uma grande mudança nos índices de diversidade. Novamente, observou-se que os valores de heterozigosidade observada (H_o) foram inferiores aos valores de heterozigosidade esperada (H_e) para os dois grupos temporais, indicando a deficiência de heterozigotos com relação ao Equilíbrio de Hardy-Weinberg. O valor de H_e foi superior no período de 2014 – 2016 com relação ao valor encontrado para aos genótipos coletados em 1980, tal como foi observado na primeira análise com todos os morfotipos, confirmando o aumento na diversidade genética de um grupo temporal a outro (Tabela 13). Isso também ficou evidente quando se observa os valores da riqueza alélica, em que o grupo temporal 2014 – 2016 apresentou valor superior ao grupo 1980. A riqueza alélica é um parâmetro bastante informativo sobre um evento recente de *boottleneck*, pois a redução do tamanho efetivo causa uma perda maior sobre a riqueza alélica do que sobre a heterozigosidade (SPENCER et al., 2000; PETIT et al., 1988).

Tabela 13. Comparação entre estimadores de diversidade genética e coeficientes de endogamia de entre grupos de genótipos cultivados de *Phaseolus lunatus*.

Pop	N	%P	Na	Ne	RA	Ho	He	G-W
<i>Pool gênico total</i>	54	38,19	1,407	1,228	2,696	0,206	0,458	0,157
<i>Grupos temporais</i>								
2016 – 2014	10	100,00	3,500	1,993	3,395	0,080	0,463**	0,340
1980	10	87,50	2,000	1,327	1,996	0,057	0,205**	0,226

** Significativo a 1% pelo teste T pareado ($p < 0,01$); % P, percentagem de *locos* polimórficos a 95%; Na, número de alelos; Ne, número de alelos efetivos; RA: riqueza alélica; Ho, heterozigosidade observada; He, heterozigosidade esperada; Índice G-W, Garza-Williamson modificado. Grupo 1 refere-se aos morfotipos a1, a2, a6, a8, a9 e a11 coletados no período 2014 - 2016 e grupo 2 refere-se aos mesmos morfotipos coletados em 1980.

No grupo temporal 2016-2014, sob o teste de Sign realizado para os genótipos com os mesmos morfotipos, observou-se que o OHe foi superior ao

EHexc para o modelo IAM, o mesmo não foi observado para o modelo SMM, apesar de o EHeexc ter sido superior ao OHe. Já para o grupo temporal 1980, os testes de Sign o OHe foram superiores ao EHexc para os dois modelos. Apesar dessa diferença, não foi possível observar diferenças significativas entre esses valores para em nenhum dos grupos temporais (Tabela 14). Esses resultados indicam que para o teste de Sign, considerando os mesmos morfotipos entre os dois grupos temporais, não houve excesso heterozigotos em um número significativo de *locos* e, portanto, é possível que não tenha ocorrido gargalos genéticos para os genótipos estudados.

Entretanto o teste de Wilcoxon mostrou um resultado diferente, pois revelou-se significativo ($p < 0,005$) para o modelo IAM (0,01367), e não significativo para o modelo SMM, baseado em oito *locos* de microssatélites. Assim, a hipótese nula de equilíbrio de mutação-deriva foi rejeitada para o modelo IAM sugerindo a ocorrência de gargalo genético segundo esse modelo para os genótipos coletados em 2014 - 2016. O mesmo não foi observado para 1980, já que os valores de probabilidade para o teste de Wilcoxon não foram significativos. Assim pode-se entender que para os genótipos de 1980 não houve o processo de erosão genética (Tabela 14).

Tabela 14. Testes de sinais de Wilcoxon para o excesso de heterozigose (LUIKART et al., 1998a) em grupos de genótipos cultivados em *Phaseolus lunatus*, considerando os morfotipos a1, a2, a6, a8, a9 e a11 para os dois grupos temporais (período de 2016 - 2014 e 1980).

Grupos temporais	IAM			SMM		
	Teste de Sign		Teste de Wilcoxon	Teste de Sign		Teste de Wilcoxon
	<i>OHe</i>	<i>EHexc</i>	p	<i>OHe</i>	<i>EHexc</i>	p
2016 - 2014	6	3,86	0,013	4	4,41	0,628
1980	4	2,89	0,289	4	3,32	0,593

EHexc: número de *locos* esperado com excesso de heterozigosidade no modelo de mutação-deriva; OHe: número de *locos* observado com excesso de heterozigosidade; p: probabilidade de não haver excesso significativo de heterozigosidade. Valores significativos de probabilidade estão em negrito.

4. Considerações finais

Houve um incremento da diversidade genética de entre os genótipos coletados no período de 2014 - 2016, provavelmente pela busca, por parte dos agricultores, por genótipos que reúnam características desejáveis ao mercado

consumidor e sejam agronomicamente favoráveis. Apesar de ter se observado um aumento da diversidade genética, os dados também mostram a provável ocorrência de um gargalo ocasionado por um processo de erosão genética recente. Dessa forma ainda não se observou as consequências da redução da diversidade. Ademais, o *pool* gênico do período de 2014 - 2016, pode ter passado por um processo de recuperação de um possível gargalo genético, e por essa razão observou-se uma pequena elevação dos níveis de diversidade genética.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq-Brasil) pelo apoio financeiro desta pesquisa. A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio às bolsas de estudo. Este trabalho foi realizado no Laboratório de Marcadores Moleculares da Universidade de Recursos Naturais do Centro de Investigação Científica de Yucatán (CICY), em especial a Matilde Margarita Ortiz García; Jaime Alejandro Muñoz Lopez e Grecia Montalvo Fernández. Ao Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA) em especial ao Dr. Antônio Félix da Costa. A Universidade Federal do Piauí pelo apoio a esta pesquisa.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, A. U. et al. Emergência de plântulas de fava em função de posições e profundidades de semeadura. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 30, n. 1, p. 33-42, 2014.

AZEVEDO, J. N.; FRANCO, L. J. D.; ARAÚJO, R. O. C. **Composição química de sete variedades de feijão-fava**. Comunicado Técnico, Teresina: Embrapa Meio-Norte, p. 4, 2003.

BAREKE, T.; ASFAW, Z. Genetic Erosion of Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L., Fabaceae) Landraces in Southeastern Ethiopia. **Agricultural Journal**, v. 13, p. 29-33, 2018.

BASSAM, B. J.; CAETANO-ANOLLES, G.; GRESSHOFF, P.M. Fast and sensitive silver staining of DNA in polyacrilamide gels. **Analytical Biochemistry**, v.196, n.1, p. 80-83, 1991.

BEARDMORE, J. A. Extinction, survival and genetic variation. In: SCHOENWALD-COX, C. M.; CHAMBERS, S. M.; MACBRYDE, B.; THOMAS, L. (eds) **Genetics and conservation**. The Benjamin/ Cummings Publishing Company, California, p. 125–151, 1983.

BERENTSEN, P. B.M. et al. Costs and benefits of on-farm nature conservation. **Ecological Economic**, v. 62, p. 571–579, 2007.

BRUSH, S. B. **Genetic erosion of crop populations in centers of diversity: a revision**. In: Proceedings of the technical meeting on the methodology of the FAO world information and early warning system on plant genetic resources held at the Research Institute of Crop Production, Prague, Czech Republic, p. 21–23, 1999.

BROWN, A. et al. **Genetic indicators for state of the environment reporting**. State of the Environment Technical Paper Series (Environmental Indicators). Department of Environment Sport and Territories, Canberra, ACT, 1997.

CARVALHO, V. B. D. **Caracterização de genótipos de feijão-lima (*Phaseolus lunatus* L.) na região de Pelotas – Rio grande do Sul**. 2012. 78f. Dissertação (Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Sementes) - Universidade Federal de Pelotas. Pelotas, RS, 2012.

DEBNATH, S. C. Genetic Diversity and Erosion in Berries. In: AHUJA, M.R.; JAIN, S.M. (eds.) - Genetic Diversity and Erosion in Plants, Sustainable Development and Biodiversity. Case histories. **Springer - International Publisher Science**, v. 2, p. 75-129, 2016.

DOYLE, J. J.; DOYLE, J. L. Isolation of plant DNA from fresh tissue. **Focus**, v. 12, p.13–15, 1987.

ESQUINAS-ALCAZAR, J. Science and society: Protecting crop genetic diversity for food security: political, ethical and technical challenges. **Nature Review Genetics**, v. 6, p. 946-953, 2005.

EXCOFFIER, L.; LAVAL, G.; SCHNEIDER, S. Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis. **Evolutionary Bioinformatics Online**, v. 1, p. 47–50, 2005.

FAO. **The State of the World's plant genetic resources: diversity and erosion**. Third world resurgence. Farmers' rights and the battle for agrobiodiversity. Issue No. 72/73 KDN PP6738/1/96. An excerpt from the report on the State of the World's plant genetic resources prepared by the FAO secretariat for the international technical conference on plant genetic resources at Leipzig, Germany, p. 17–23, 1996.

GARZA, J. C.; WILLIAMSON, E. G. Detection of reduction in population size using data from microsatellite locus. **Molecular Ecology**, v.10, p. 305-318, 2001.

GONZÁLEZ-GUTIÉRREZ, J. M. **Biodiversidad agrícola y erosión genética**. In: Especies exóticas invasoras en Andalucía. Talleres provinciales 2004-2006. Consejería de Medio Ambiente - Junta de Andalucía, España, 2006.

HARDY, O. J.; VEKEMANS, X. SPAGeDi: a versatile computer program to analyse spatial genetic structure at the individual or population levels. *Molecular Ecology Notes* 2: p. 618-620, 2002.

HOLUBEC, V.; VYMYSLICKÝ, T.; PAPRŠTEIN F. Possibilities and Reality of *On-farm* conservation. **Genetic Plant Breeding**, v. 46, p.60–64 ,2010.

IBGE – **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**. Banco de dados agregados: pesquisa: produção agrícola municipal, 2017. Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br/Tabela/5457>. Acesso em: 30/10/2018.

JAQUIERY, J.; GUILLAUME, F.; PERRIN, N. Predicting the deleterious effects of mutation load in fragmented populations. **Conservation Biology**, v. 23, p. 207–218, 2009.

JARVIS, D. I. L. et al. A Training Guide for In Situ Conservation On-farm. Version 1. **International Plant Genetic Resources Institute**, Rome, Italy, 2000.

LIOI, L.; GALAZO, I. Oligonucleotide DNA fingerprinting revealing polymorphism in *Phaseolus lunatus* L. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 49, p. 53-58, 2002.

LUIKART, G.; CORNUET, J. M. Empirical evaluation of a test for identifying recently bottlenecked populations from allele frequency data. **Conservation Biology**, v.12, p. 228–237, 1998a.

LUIKART, G. et al. Distortion of allele frequency distributions provided a test for recent population bottlenecks. **The Journal of Heredity**, v. 89, p. 238–247, 1998.

MARAS, M. et al. Temporal changes in genetic diversity of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) accessions cultivated between 1800 and 2000. **Russian Journal of Genetics**, v. 42, n. 7, p. 775–782, 2006.

MARTÍNEZ-CASTILLO, J. et al. Intraspecific diversity and morpho-phenological variation in *Phaseolus lunatus* L. from the Yucatan Peninsula, Mexico. **Economic Botanic**, v. 58, n. 3, p. 354–380, 2004.

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

MARTÍNEZ-CASTILLO J. et al. Wholesale replacement of Lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) landraces over the last 30 years in northeastern Campeche, Mexico. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 59, p. 191-204, 2012.

MARTÍNEZ-CASTILLO, J. et al. Genetic structure within the Mesoamerican gene pool of wild *Phaseolus lunatus* (Fabaceae) from Mexico as revealed by microsatellite markers: implications for conservation and the domestication of the species. **American Journal of Botany**, v.101, p.851–864, 2014.

MARTÍNEZ-CASTILLO, J. et al. Genetic Erosion and In Situ Conservation of Lima Bean (*Phaseolus Lunatus* L.) Landraces in Mesoamerican Diversity Center. In: AHUJA, M.; JAIN, S. (eds) Genetic Diversity and Erosion in Plants. Sustainable Development and Biodiversity, Case histories. **Springer - International Publisher Science**, v. 8., 2016.

MAXTED, N.; GUARINO, L. Genetic erosion and genetic pollution of crop wild relatives. In FORD-LLOYD, B. V.; DIAS, S. R.; BETTENCOURT, E. (eds) **Genetic erosion and pollution assessment methodologies**. Proceedings of PGR Forum Workshop 5, Terceira Island, Autonomous Region of the Azores, Portugal, 2004, p. 35–45. Published on behalf of the European Crop Wild Relative Diversity Assessment and Conservation Forum, Biodiversity International, Rome, Italy, p. 100, 2006.

MEGERSA, G. Genetic erosion of barley in North Shewa Zone of Oromiya Region, Ethiopia. **International Journal of Biodiversity and Conservation**, v. 6, n. 3, p. 280-289, 2014.

NORGAARD, R. B.; SIKOR, T. O. Metodología y práctica de la agroecología. En: ALTIERI, M. A. (ed.). **Agroecología: Bases científicas para una agricultura sustentable**. CLADES/ACAO, La Habana, 1997.

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.

PENHA, J. S. et al. Estimation of natural outcrossing rate and genetic diversity in Lima bean (*Phaseolus lunatus* L. var. *lunatus*) from Brazil using SSR markers: implications for conservation and breeding. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 64, p.1355–1364, 2017.

PETIT, R. J.; EL MOUSADIK, A.; PONS, A. O. Identifying Populations for Conservation on the basis of genetic markers. **Conservation Biology**, Gainesville, v.12, n.4, p. 844-855, 1998.

RICHARDS, R.; RUIVENKAMP, G. Seeds and survival: crop genetic resources in war and reconstruction in Africa. **International Plant Genetic Resources Institute**, Rome, Italia, 1997.

SILVA, R. N. O. et al. Phenotypic diversity in lima bean landraces cultivated in Brazil, using the Ward-MLM strategy. **Chilean Journal of Agricultural Research**, v. 77, p. 35-40, 2017.

SPENCER, C. C.; NEIGEL, J. E.; LEBERG, P. L. Experimental evaluation of the usefulness of microsatellite DNA for detecting demographic bottlenecks. *Molecular Ecology*, Oxford, v. 9, p. 1517-1528, 2000.

VIEIRA, R. F. **A cultura do feijão-fava**. Informe Agropecuário, Belo Horizonte, v. 16, n. 174, p. 30-37, 1992.

CAPÍTULO III – Riqueza de variedades crioulas e o conhecimento tradicional associado ao feijão-fava no Nordeste brasileiro

Resumo

O feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.) é uma espécie que apresenta grande importância socioeconômica, para o Brasil, especialmente para a região Nordeste. A espécie possui elevada variabilidade genética, entretanto tem-se observado a perda de diversidade ao longo das décadas. Informações relacionadas com a atual diversidade fenotípica e o conhecimento associado ao feijão-fava no Brasil são escassas. O objetivo do trabalho foi estudar a riqueza de variedades crioulas e o conhecimento tradicional associado ao feijão-fava, evidenciando aspectos sociais, econômicos e de manejo agrícola da espécie realizados por agricultores tradicionais. Para esse estudo, foram realizadas entrevistas semi-estruturadas com os agricultores familiares de 19 municípios distribuídos nos estados do Ceará, Maranhão, Paraíba, Pernambuco e Piauí. Nos estados do Ceará, Paraíba e Pernambuco a escolha dos agricultores a serem entrevistados foi realizada por meio da metodologia de amostragem intencional não probabilística, já no Maranhão e Piauí foi realizada por meio da amostragem “bola de neve”. Em todos os municípios estudados a maior parte dos agricultores produzem e também comercializam o feijão-fava. A maioria dos agricultores concordaram que no passado cultivavam maior variedade de feijão-fava, mas que, devido à preferência do mercado, atualmente cultivam apenas uma ou no máximo três variedades. Assim é possível perceber que existe diversidade de variedades tradicionais mantida pelos agricultores nas comunidades estudadas. O Ceará foi o estado que apresentou maior riqueza de variedades tradicionais, pois os agricultores desse estado comportam-se como guardiões de sementes, ou seja, mesmo com a ocorrência de pressões de mercado para homogeneizarem seus cultivos, estes continuam cultivando aquelas que já são habituados. Os resultados evidenciam que em um futuro próximo sejam perdidas muitas informações relacionadas ao feijão-fava por não terem sido repassadas à geração mais nova. Essa perda é consequência do processo de êxodo rural dos jovens do campo e de seu desinteresse pela agricultura tradicional.

Palavras-chave: *Phaseolus lunatus*; variedades crioulas; variabilidade genética; guardiões de sementes.

1. Introdução

A espécie *Phaseolus lunatus*, popularmente conhecida como fava ou feijão-fava é uma dentre as cinco espécies do gênero *Phaseolus* que mais se destaca com relação a importância social e econômica. Apresenta elevada

variabilidade genética, sendo cultivado variados genótipos nas diferentes regiões do mundo. No Brasil, a espécie é cultivada especialmente na região Nordeste, no qual o estado do Ceará é o maior produtor, seguido pelos estados de Pernambuco e Paraíba (IBGE, 2017).

O cultivo do feijão-fava é realizado, em grande parte, por agricultores tradicionais, em pequenas áreas e com técnicas tradicionais de manejo. Entretanto o cenário brasileiro de produção dessa espécie tem sofrido grandes mudanças, principalmente em decorrência do interesse dos agricultores em aumentar a produção, visando aproveitar o elevado preço de mercado do grão. Desse modo os agricultores começaram a elevar o nível tecnológico na lavoura, que se deu por meio do emprego de irrigação, utilização de defensivos agrícolas e a realização do preparo do solo por máquinas agrícolas (LOPES et al., 2010).

A perda de conhecimento tradicional associado a espécie pode estar ligada as modificações no modo de produção. Esse conhecimento é importante pelo fato de considerar as práticas locais realizadas individual ou coletivamente, já que estão diretamente associadas a conservação do patrimônio genético, e, portanto, apresentam grande valor real ou potencial. Caso ocorram mudanças na forma de manejo de uma espécie os saberes tradicionais relacionados a esta podem ser perdidos já que na maioria das vezes são passados de uma geração a outra de forma oral (SANTILLI, 2004).

A perda das informações tradicionais referentes ao manejo do feijão-fava poderia colocar em risco a variabilidade genética desta espécie. Além disso, a seleção dos genótipos dirigida pela demanda de mercado, também pode contribuir para a perda de variabilidade genética, uma vez que o cultivo de genótipos tradicionais pode diminuir ou aumentar em função da flutuação dos preços no mercado e da preferência dos consumidores.

O desaparecimento de genótipos tradicionais, também conhecidos como variedades crioulas, pode estar associada a outros fatores como: a substituição do seu consumo por outras leguminosas como o feijão-comum (*Phaseolus vulgaris*) e o feijão-caupi (*Vigna unguiculata*); a fatores intrínsecos à espécie como, baixa produtividade, problemas de palatabilidade; além de fatores socioeconômicos, como a preferência do mercado. Todos esses fatores podem causar o desuso do germoplasma tradicional provocando o processo de erosão genética (MARTÍNEZ-CASTILLO et al., 2004; 2008; FAO, 1996). O processo de

perda de alelos e genótipos de uma espécie ao longo do tempo pode ser conceituada como erosão genética (JARVIS et al., 2000).

A conservação da diversidade genética é apontada como uma estratégia de manutenção da segurança alimentar, econômica e ecológica para a humanidade. Por esse motivo, existe uma grande preocupação com relação à sua manutenção (LEITE, 2005).

A biodiversidade agrícola é considerada como o resultado de uma interação contínua e de pessoas com o seu ambiente, ou seja, co-evoluem naturalmente (NORGAARD; SIKOR, 1997). Este tipo de interação vem recebendo status de conservação, podendo ser chamada de conservação *on farm*, e conceituada como a manutenção sustentável das variedades locais e cultivares obsoletas, por serem cultivadas em conformidade com as condições ambientais. Esta forma de conservação é dinâmica, e possibilita o desenvolvimento e a manutenção evolutiva de genótipos que estão sob a influência do meio ambiente local e de tecnologias utilizadas pelos agricultores (HOLUBEC; VYMYSLICKÝ; PAPRŠTEIN, 2010).

Diferentes autores afirmam que a melhor forma de conservação de germoplasma é dentro do sistema agrícola (NIEBLA; SANTAMARÍA; CHÁVARRI, 2000; BERENTSEN, et al., 2007; HOLUBEC; VYMYSLICKÝ; F. PAPRŠTEIN, 2010). Entretanto, para que a informação esteja correta é necessário que os agricultores sejam “guardiões do germoplasma” tomem consciência da importância do trabalho que desempenham, pois assim estarão conservando as variedades tradicionais e mantendo-as em constante evolução.

Além disso, estarão assegurando sua soberania alimentar, que conforme declara a Via Campesina, trata-se do direito dos povos de definir suas próprias estratégias de produção, comercialização e consumo de alimentos, respeitando a cultura, a diversidade dos agricultores, a produção agropecuária, assim como a gestão dos ambientes rurais, em que a mulher cumpre um papel fundamental. A soberania alimentar também contribui para a autonomia econômica, política e cultural dos povos, além de garantir a redução da fome por meio da independência alimentar dos povos (FÓRUM MUNDIAL SOBRE SOBERANIA ALIMENTAR, 2001).

Portanto, é necessário entender e caracterizar o comportamento dos agricultores tradicionais que cultivam o feijão-fava, para verificar a perda de

variedades crioulas, que são extremamente importantes para a segurança alimentar. Ademais elas são fontes essenciais de recursos genéticos para futuros programas de melhoramento genético do feijão-fava. Assim, o objetivo do trabalho foi estudar a riqueza de variedades crioulas e o conhecimento tradicional associado ao feijão-fava, evidenciando aspectos sociais, econômicos e de manejo agrícola da espécie realizados por agricultores tradicionais.

2. Material e Métodos

Foram realizadas viagens a 12 municípios localizados em cinco estados: Ceará, Maranhão, Paraíba, Pernambuco e Piauí, entre os meses de junho a outubro de 2016 (Figura 7, Tabela 15).

Os cinco estados foram escolhidos por apresentarem as maiores produções de feijão-fava nacionais segundo o IBGE (2017) (Figura 7, Tabela 15).

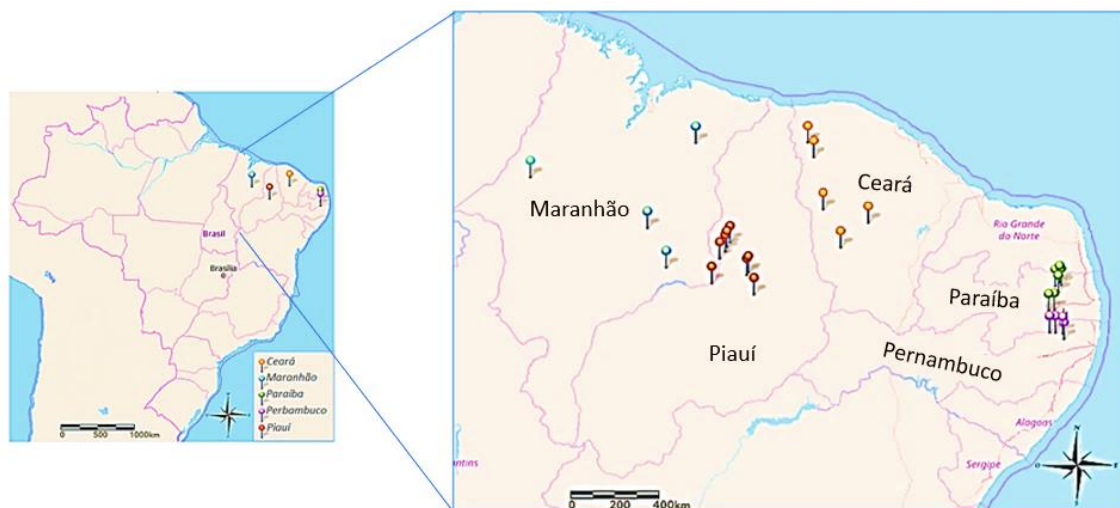


Figura 7. Localização dos pontos de coleta de 42 variedades tradicionais de feijão-fava coletados nos estados do Ceará, Maranhão, Paraíba, Pernambuco e Piauí, Brasil. Fonte: Arcgis.

Tabela 15. Identificação do local de coleta dos dados e número de entrevistados.

Estado	Cidade	Latitude	Longitude	n
CE	Tianguá	-3,732	-41,042	3
CE	Pedra Branca	-5,4546	-39,7177	3
CE	São Benedito	-4,0449	-40,8651	2
MA	São Domingos	-5,75	-44,466	5
PB	Queimadas	-7,31	-35,9	2
PB	Solânea	-6,793	-35,766	1
PB	Areia	-6,877	-35,809	2
PE	Surubim	-6,55	-42,169	1
PE	Passira	-8,016	-35,511	3
PE	João Alfredo	-7,865	-35,612	1
PE	Santa Maria do Cambucá	-7,923	-35,81	4
PI	Várzea Grande	-7,873	-35,24	5

n= Número de entrevistados

Durante as visitas às comunidades conhecidamente produtoras de feijão-fava, foram entrevistados 32 agricultores tradicionais que trabalham no cultivo do feijão-fava.

Os pesquisadores contaram com o auxílio de técnicos, e pessoas que conhecem a dinâmica de vida dos agricultores familiares, nos estados do Ceará, Paraíba e Pernambuco. Esta contribuição foi importante para orientar na escolha dos “atores” a serem entrevistados segundo os critérios da pesquisa (pessoas que tradicionalmente cultivam o feijão-fava).

Nos estados do Maranhão e Piauí, os entrevistados foram selecionados por amostragem intencional não probabilística e pela técnica ‘bola de neve’ (ALBUQUERQUE et al., 2010). Essa técnica é uma forma de amostragem em que os participantes iniciais de um estudo indicam novos participantes do universo a ser estudado, os quais, por sua vez, apontam novamente outros participantes e, assim sucessivamente, até que seja alcançado o objetivo proposto (WHO, 1994).

Após a escolha dos primeiros entrevistados e do contato inicial foram realizadas 32 entrevistas com agricultores familiares que cultivam feijão-fava. Durante a realização das entrevistas semiestruturadas as perguntas permitiram estabelecer um diálogo com o entrevistado. Entretanto, foi utilizado um roteiro básico para a entrevista semelhante ao usado por Martínez-Castillo et al. (2008) (ANEXO A).

As entrevistas foram realizadas por meio de formulário semiestruturado, baseado em cinco eixos temáticos: 1) identificação do informante local e caracterização da propriedade (situação socioeconômica); 2) identificação e caracterização das variedades tradicionais de feijão-fava conservadas na propriedade (características morfológicas, origem, tempo de conservação pela família, tempo de cultivo na propriedade e valores associados aos usos e preferências); 3) identificação das estratégias de manejo agrícola local (do plantio ao armazenamento); 4) identificação das limitações e potencialidades do plantio do feijão-fava e; 5) identificação dos processos e causas de uma possível erosão genética na cultura.

Durante as entrevistas, foi realizada a coleta do germoplasma local, com o intuito de enriquecer a variabilidade do Banco de Germoplasma de feijão-fava da Universidade Federal do Piauí (UFPI). O material coletado consistiu de sementes; a quantidade variou conforme a disponibilidade na ocasião da coleta. No total, foram coletadas 54 variedades tradicionais.

Análise de Dados

A partir das informações obtidas nas entrevistas, foi construído uma planilha no software Excel 2010 para armazenar todos os dados quantitativos e descritivos coletados das entrevistas. Com o auxílio do mesmo programa foram realizadas as análises e interpretação dos resultados sobre o manejo do feijão-fava nas unidades produtivas (também conhecidas como roças ou roçados). Utilizou-se estatística descritiva para obtenção de médias, frequências e elaboração de tabela dos dados quantitativos. As demais informações foram analisadas qualitativamente, sendo discutidas de forma textual.

Acordo de propriedade intelectual / Aprovação ética

Este estudo foi realizado com o pleno consentimento de todos os participantes. Antes da realização do trabalho foram realizadas reuniões para esclarecer os objetivos do trabalho. A Universidade Federal do Piauí (UFPI) concedeu aprovação ética para o estudo por meio de um processo cadastrado na Plataforma Brasil, conforme o número do processo: 61921516.3.0000.5214.

3. Resultados e Discussão

Caracterização dos agricultores e manejo tradicional

A média de idade dos agricultores entrevistados foi de 58 anos, variando de 34 e 79 anos (Figura 8). Os entrevistados no estado da Paraíba têm uma maior faixa etária, com idades que variam de 58 a 75 anos (68,2 anos em média). Já no estado do Maranhão estão os mais jovens, variando de 34 a 70 anos. Nenhum dos produtores rurais entrevistados nos cinco estados tinham menos de 30 anos. Neste estudo, a maioria dos que responderam aos questionários foram homens, representando 87,5% do total, e apenas 12,5% são mulheres, que aparecem representadas somente em Pernambuco (n=4) (Figura 8). Segundo dados do IBGE (2017) em uma pesquisa realizada em 245.623 estabelecimentos agropecuários também foi observado que a maioria dos agricultores são homens com idade variando de 30 a 58 anos (78% homens e 22% mulheres). Esses dados demonstram que o universo amostral deste trabalho pode estar representando corretamente a realidade.

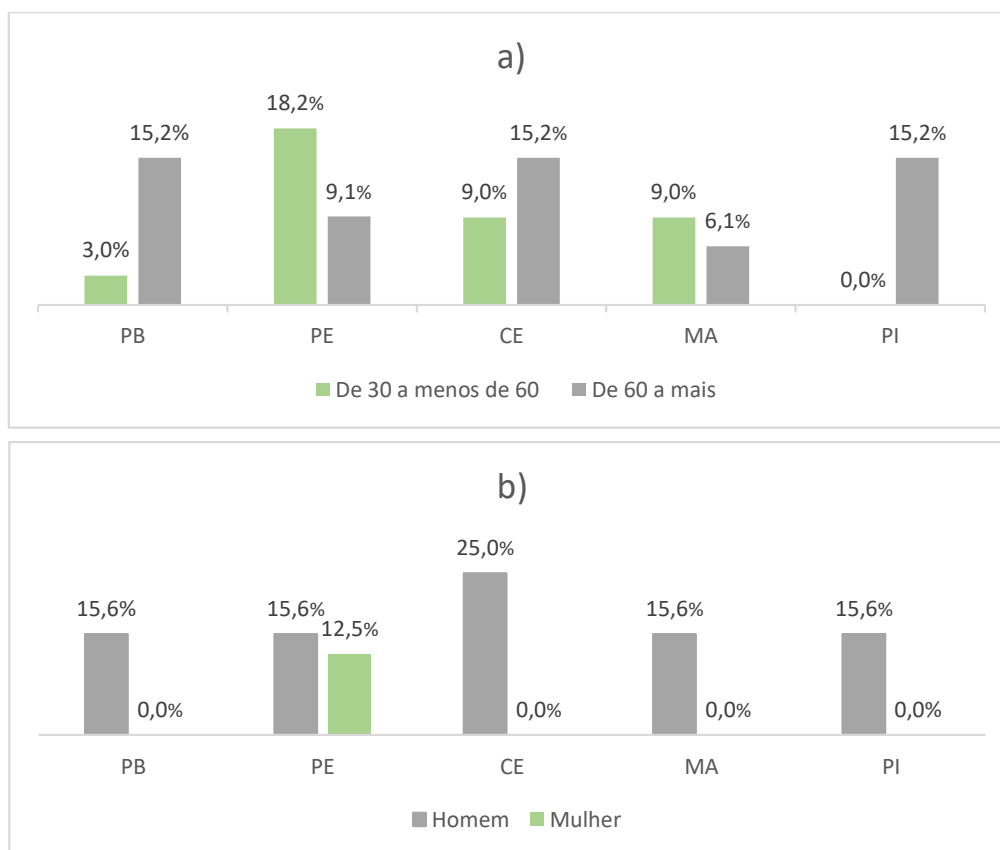


Figura 8. Percentual de agricultores entrevistados com relação a: a) porcentagem de homens e mulheres e b) Faixa etária dos agricultores por estado.

Todos os produtores nasceram na zona rural e a maioria deles reside na cidade natal há mais de dez anos. Grande parte (97%, n=31) possui casa própria, com uma média de quatro pessoas que vivem na residência. Segundo os dados informados, a média de pessoas por residência que trabalham na agricultura é de apenas duas. Correlacionando essa informação com a média de idade, pode-se entender que geralmente são os homens mais velhos que trabalham na agricultura. Isso pode estar associado ao êxodo rural dos membros mais jovens das famílias, devido busca por emprego nas grandes cidades, tornando cada vez mais escasso o repasse de informações de pessoas mais idosas para mais jovens (FREITAS et al., 2012).

Os dados evidenciam o envelhecimento da população rural e também a ocorrência de um processo denominado de masculinização rural. Segundo (ANJOS, CALDAS, 2005) esse processo deve-se a vários fatores como: a desvalorização do trabalho feminino no campo e inferior remuneração pelo trabalho desenvolvido, em relação aos homens, pois mesmo a mulher desempenhe funções tão difíceis e cansativas, seu trabalho é tido apenas como ajuda, o que reflete diretamente na remuneração inferior; ao maior nível de escolaridade das mulheres jovens, o que lhes instiga a buscar por mais estudo na cidades, já que geralmente não encontram na zona rural (MAIA; BUAINAIN, 2015; PAULILO, 1987).

A escolaridade dos agricultores que participaram da pesquisa é baixa, já que mais da metade não são alfabetizados (59,4%, n=19), e apenas 21,9% (n=7) estudaram até o ensino fundamental. Somente dois cursaram o ensino médio, médio tradicional e em técnico em agropecuária (3,1%), nenhum cursou o ensino superior (Figura 9).

O baixo nível de estudo pode ser justificado pelo difícil acesso ao ensino básico no passado, devido a inexistência de escolas ou a distância de suas residências para a escola. Resultados semelhantes foram encontrados por Barbosa; Arriel (2018), que também encontraram baixa escolaridade, nenhum agricultor cursou o ensino superior e a maioria dos entrevistados não eram alfabetizados, e quando respondiam que eram alfabetizados, assinavam apenas o nome civil. Outros estudos realizados com agricultores familiares na região Nordeste do Brasil, observaram a mesma deficiência com relação ao reduzido

grau de escolaridade da população rural (FREITAS et al., 2012; RODRIGUES; ANDRADE, 2014; SILVA et al., 2015).

A principal fonte de renda citada pelos entrevistados é a agricultura (62,5%). Também foi citado como fonte de renda benefício, a aposentadoria (25%). Outras atividades como a pecuária, bovinocultura e a terceirização de serviços obtiveram 12,5% das citações (Figura 9). A principal fonte de renda advinda da agricultura é o cultivo de espécies vegetais. As espécies vegetais cultivadas mais citadas foram: milho (*Zea mays*), feijão (*Phaseolus vulgaris*), feijão-caupi (*Vigna unguiculata*), mandioca (*Manihot esculenta*) e feijão-fava (*Phaseolus lunatus*). Por meio da comercialização e da realização de trocas da produção dessas culturas por outros produtos, os agricultores alcançam seu sustento.

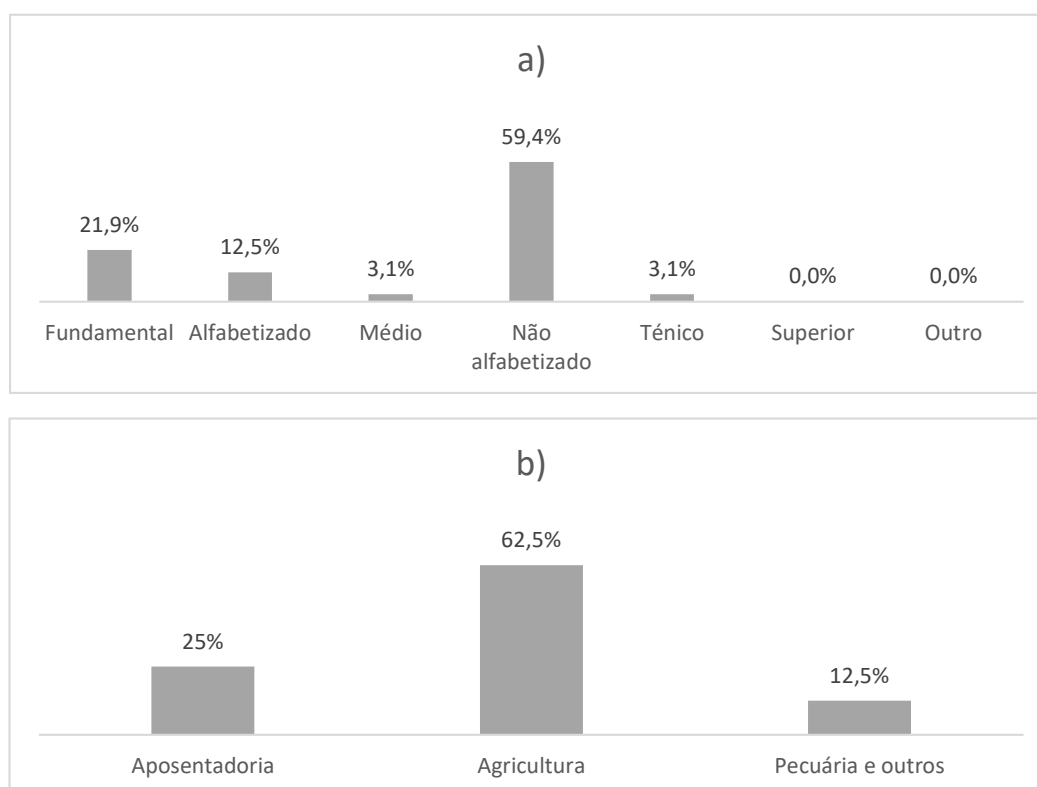


Figura 9. Percentual de agricultores entrevistados com relação a: a) escolaridade e b) principal fonte de renda.

Segundo informações disponibilizadas pelos agricultores, pouca tecnologia é empregada no manejo dos roçados, sendo que 78% (n=25) dos responderam que realizam o preparo do solo de forma manual ou com o auxílio de tração animal, sem a utilização de maquinário agrícola (como tratores e

implementos - grade e arado). Apenas 7 citaram (22%) que utilizam máquinas agrícolas para auxiliar no preparo da terra, a maior parte é do estado de Pernambuco, como citado por oito famílias. No estado da Paraíba, somente dois agricultores citaram que utilizam tratores para arar e/ou gradear o solo, demonstrando um maior emprego de tecnologias no cultivo do feijão-fava nesses estados (Tabela 16).

Tabela 16. Frequência observada (percentual e número de agricultores) com relação a aspectos preparo do solo e o uso de insumos no cultivo do feijão-fava.

Perguntas	Estado									
	Ceará		Maranhão		Paraíba		Pernambuco		Piauí	
	N	(%)	N	(%)	N	(%)	N	(%)	N	(%)
Preparo do solo										
Manual	7	21,88	4	12,50	3	9,38	6	18,75	5	15,63
Máquina	1	3,13	1	3,13	2	6,25	3	39,38	0	0
Usa adubo										
Químico	2	6,25	3	9,38	0	0	4	12,50	0	0
Orgânico	6	18,75	2	6,25	5	15,63	3	9,38	3	9,38
Nenhum	0	0	0	0	0	0	2	6,25	2	6,25
Uso herbicida										
Sim	4	12,5	2	6,25	0	0	2	6,25	4	12,5
Não	4	12,5	3	9,38	5	15,63	7	21,88	1	3,13
Usa inseticida										
Sim	3	9,38	2	6,25	2	6,25	8	25,00	2	6,25
Não	5	15,63	0	0	3	9,38	1	3,13	1	3,13
Não respondeu	0	0	3	9,38	0	0	0	0	3	9,38

As principais etapas para o preparo do solo no cultivo tradicional do feijão-fava foram: broca, encoivara, queima e plantio. Apenas 30% dos agricultores realizam seus cultivos em quintais produtivos, já a maior parte cultiva em áreas mais afastadas de suas casas, em uma distância que varia de 500 metros há 6 quilômetros. O tamanho da área cultivada variou de 0,05 a 5 hectares, sendo que 79% disseram que cultivam de 0,05 a 2 hectares de feijão-fava.

A adubação química é realizada por menos da metade dos agricultores (28%), o mesmo acontece com a aplicação de herbicidas (28%), entretanto mais da metade dos agricultores (51%) citaram que utilizam algum tipo de defensivo químico para controle de insetos que atacam o feijão-fava. É preocupante pois durante as entrevistas muitos dos agricultores que disseram fazer uso de inseticidas químicos sem supervisão ou indicação de um técnico capacitado.

Além do mais, regularmente realizam a aplicação dos defensivos químicos que contém substâncias classificadas como extremamente tóxicas sem a utilização de EPI (equipamento de proteção individual). A facilidade ao acesso e a falta de assistência técnica especializada, como agrônomos e técnicos agrícolas, contribuem para utilização indiscriminada desses produtos altamente prejudiciais tanto à saúde dos produtores rurais como ao meio ambiente. Portanto, o auxílio de um profissional qualificado poderia ser determinante para promoção de alternativas sustentáveis para eliminação ou uso seguro de agrotóxicos (ZORZETTI et al., 2014).

Todos os agricultores entrevistados cultivam o feijão-fava em consórcio com alguma outra espécie, geralmente milho (87% das citações). Barbosa; Arriel (2018) em um estudo com agricultores familiares em 10 comunidades no estado da Paraíba, também constataram a diversificação da produção por meio do consórcio de diferentes culturas agrícolas, seja em consórcio seja em rotação de cultivos como fava, batata doce, feijão, inhame, milho, mandioca e macaxeira.

O milho pode ser uma boa alternativa para o cultivo em consórcio com espécies de porte prostrado como o feijão-fava, uma vez que este é utilizado como tutor, mesmo após a sua colheita, entretanto, devem ser utilizadas cultivares de milho que são mais indicadas para o consórcio, devido à forte competição (SANTOS; ARF; KOMURO, 2010). Assim, o espaçamento adotado para o feijão-fava é geralmente o mesmo utilizado para o cultivo do milho. Outros tutores também foram citados como: cercas, mata nativa e outras espécies como mamão (*Carica papaya*) e mandioca (*Manihot esculenta*) (Figura 10).

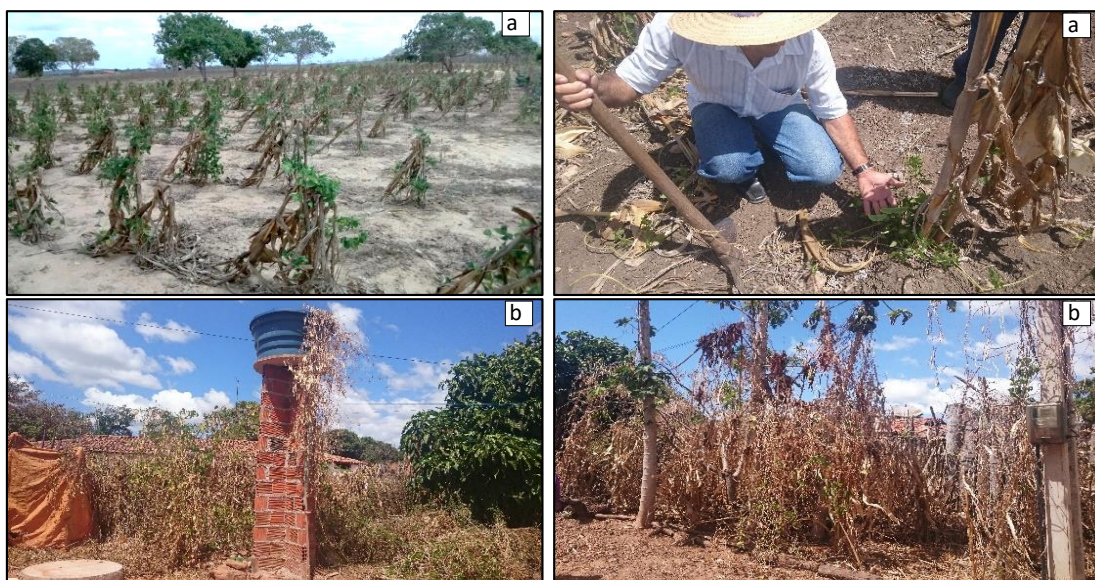


Figura 10. Tipos de tutores usados para dar sustentação à planta de feijão-fava. a) Planta de feijão-fava tutorada pelo milho; b) Planta de feijão-fava tutorada por cerca, poste e mamoeiro.

Na maioria das unidades produtivas de feijão-fava (que corresponde a 91% dos agricultores entrevistados), as variedades tradicionais são plantadas separadamente umas das outras, no entanto, foram encontrados 3 agricultores (dois do Ceará e um do Piauí, $n=9\%$) onde é realizado o plantio de mistura de sementes de diferentes variedades tradicionais. Um fator que influencia muito na decisão de plantar as variedades de feijão-fava separadamente é a comercialização da produção, tendo em vista que as misturas de grãos de diferentes variedades são rejeitadas pelos consumidores, que preferem a homogeneidade dos grãos. O manejo das espécies cultivadas é influenciado pela lógica econômica e necessidade de comercialização, o que leva os produtores a privilegiar o plantio de variedades que atendam a demanda do mercado (PINTON, 2001).

Em todas as localidades estudadas, os entrevistados produzem o feijão-fava para o auto-consumo, entretanto 62,5% produzem essa espécie tanto para o autoconsumo como para a comercialização. A comercialização do feijão-fava é quase sempre realizada no município em que vivem os produtores (63%); alguns agricultores da Paraíba e de Pernambuco realizam a comercialização em cidades vizinhas (21%); e apenas 15% dos deles venderam a produção de feijão-fava para atravessadores.

Conforme informado pelos agricultores, a classificação das variedades de feijão-fava mais valorizadas comercialmente muda de um estado para outro. Na Paraíba, a Orelha-de-vó apareceu como a variedade tradicional de maior preço de venda, variando de R\$ 720,00 a 1200,00 a saca de 60 quilos. O mesmo foi observado no Pernambuco, em que a saca da Orelha-de-vó variou de R\$ 650,00 a 1300,00 reais. No Ceará, a mais valorizada comercialmente foi a Manteiga, com preços da saca de 60 kg que variavam de R\$ 750,00 a 900,00. Já no Maranhão, a Branca-miúda foi a que apresentou valores comerciais mais elevados cerca de R\$ 800,00. No Piauí, as variedades tradicionais Boca-de-moça e Olho-de-ovelha são as mais valorizadas comercialmente, pois segundo informado pelos agricultores estas tinham um preço de venda de aproximadamente R\$ 1.000,00 para a saca de 60 kg.

Toda essa variação demonstra claramente que a preferência dos consumidores é mutável de um estado a outro, e que este fato pode influenciar diretamente em qual variedade tradicional será mais cultivada em uma região, tendo em vista que os agricultores necessitam obter a renda familiar de seus cultivos, e portanto, observam qual a preferência dos consumidores locais para que obtenham mais lucro com sua produção.

Todos os agricultores guardam sementes para o cultivo na safra seguinte. Segundo os mesmos, as sementes de feijão-fava podem ser guardadas de seis meses a três anos, dependendo da forma de armazenamento. O armazenamento em embalagens de polietileno tereftalato (garrafas pet) foi a forma mais frequentemente citada pelos agricultores para guardar sementes para outras safras (39%, n=16), seguida por tambores de plástico (24%, n=10), e silos de zinco (20%, n=8) (Figura 11). Cerca de 70% dos agricultores afirmam realizar algum tipo de tratamento nas sementes durante o período de armazenamento. Cerca de (37,5%) aplicam produtos químicos, e para isto fazem uso de fumigantes em pastilha (gases como o fosfeto de alumínio) para o controle de pragas como os gorgulhos (Figura 11). Somente 33% utilizam produtos naturais, dentre os quais foram citados: cinzas, pimenta-do-reino, casca de laranja e pimenta-malagueta. Destes produtos é interessante ressaltar a ação comprovada da pimenta-do-reino e pó de casca de laranja, pois são produtos naturais eficazes para controle da principal praga dos grãos de feijão-

fava armazenados, o *Zabrotes subfasciatus* (SANTOS; RAMALHO; PÁDUA, 2018; ZEWDI; JEMBER, 2010).



Figura 11. Formas de armazenamento e conservação das sementes de feijão-fava, a) armazenamento em garrafas pet; b) armazenamento em silos de zinco; e c) utilização de cinza e pimenta-do-reino como forma de repelente de pragas de grãos armazenados e para evitar a eclosão de novos ovos de gorgulho.

Riqueza de variedades tradicionais

Os agricultores tradicionais cultivavam, em média, três variedades tradicionais diferentes. Um total de 50 foram citadas como conhecidas pelos agricultores entrevistados nesta pesquisa (Tabela 17). Entretanto, apenas 28 foram citadas como cultivadas e multiplicadas nos diversos roçados mantidos pelos moradores das comunidades estudadas.

Todos os agricultores afirmaram que no passado cultivavam variedades diferentes, entretanto, atualmente cultivam um ou poucos tipos (em média de 2,7 tipos, variando de um a sete). Os entrevistados citaram como o principal motivo para a seleção de qual variedade crioula de feijão-fava plantar a preferência do mercado consumidor (46%). Também foram relatados motivos relacionados ao próprio agricultor e sua família como: sabor do grão, produtividade (21% e 18 das citações respectivamente). Ainda foram apresentados como razão para a escolha do tipo de feijão-fava: 1- grão possui mais massa (maior peso seco); 2- optam por plantar só uma variedade; 3- não conseguem outras para plantar; 4- devido ao tamanho do roçado (esses outros motivos juntos representaram 15% das citações).

São notórias e crescentes as evidências de perda de diversidade de variedades localmente adaptadas de diferentes espécies nos sistemas agrícolas, assim como a perda de conhecimentos associados a essas espécies (BOEF et al, 2007; CASADO et al, 2000; PETERSEN et al, 2009; SHIVA et al, 2013). Essas perdas podem culminar na ocorrência de um fenômeno conhecido como “erosão genética”. A perda de conhecimento tradicional associado também pode influenciar diretamente no aumento ou redução da diversidade genética, além disso, os dois processos juntos podem ocasionar mudanças nas preferências e hábitos alimentares da população brasileira, refletindo diretamente na segurança alimentar das comunidades agrícolas (ALMEIDA; SCHMITT, 2008). De acordo com Diegues (1996), as atividades desenvolvidas pelas comunidades tradicionais são responsáveis pela conservação e sustentabilidade dos recursos naturais.

Os estados do Maranhão e Piauí foram os que apresentaram menos citações de variedades tradicionais atualmente cultivadas (uma a duas por agricultor), com relação às variedades que os agricultores conheciam e cultivavam pelos no passado. Isso pode indicar uma possível perda ou desaparecimento de variedades localmente adaptados de feijão-fava, que pode contribuir bastante com sua erosão genética. Esse processo pode ser bastante prejudicial ao futuro de uma espécie, já que contribui para o estreitamento da base genética e reduz a capacidade de adaptação à estresses bióticos e abióticos (MARTÍNEZ-CASTILLO et al., 2016; BEARDMORE, 1983).

Nos estados do Ceará e Paraíba os entrevistados afirmaram cultivar em média três por agricultor, podendo encontrar nesses estados agricultores que cultivam até sete diferentes, indicando uma elevada diversidade. Portanto pode-se entender que mesmo com a ocorrência de pressões do mercado consumidor, os produtores de feijão-fava desses estados não deixaram de cultivar suas preferidas, mesmo que em uma pequena área para o consumo próprio e regeneração das sementes.

Segundo o Censo Agropecuário realizado pelo IBGE em 2017, o estado do Ceará se destacou como o maior produtor de feijão-fava do Brasil, seguido pelos estados do Pernambuco e Paraíba e Maranhão. Apesar da crescente produção e área cultivada, ainda não existem variedades melhoradas dessa espécie no Brasil. Assim, para que consigam alcançar maiores produções, os

agricultores podem estar introduzindo variedades de outras comunidades e até de outros estados em busca das mais produtivas, mais adaptadas às suas regiões de cultivo e que apresentem características agronômicas e morfológicas de interesse. O intercâmbio de variedades tradicionais pode ser uma possível explicação para a maior diversidade de morfotipos de feijão-fava nos estados mais produtores dessa leguminosa.

A riqueza de variedades tradicionais é diferentemente distribuída entre as comunidades (Figura 12, Tabela 17). A “Fava-branca” e “Orelha-de-vó” apresentaram um maior número de citações (n=10 e n=7, respectivamente) sendo as mais populares, e cultivadas pela maioria das comunidades. A “Rajada” e a “Olho-de-ovelha” também foram bastante citadas (n=6 e n=5), porém não ocorrem em todas as comunidades. Resultado semelhante foi obtido por CUNHA (2017), em um estudo realizado em comunidades do estado da Paraíba, cuja variedades mais cultivadas foram a “Orelha-de-vó” e a “Rajada”. Essa riqueza de variedades não foi observada em outros trabalhos o que coloca os resultados deste estudo em evidência, em razão de sua relevância para o monitoramento e conservação da agrobiodiversidade do feijão-fava.



Figura 12. Parte dos morfotipos encontrados entre as variedades tradicionais de feijão-fava coletadas junto aos agricultores familiares nos estados do Ceará, Maranhão, Paraíba, Pernambuco e Piauí.

A atual diversidade de variedades tradicionais deve ser encarada como um resultado sujeito a variações, uma vez que modificações nas unidades produtivas geralmente são recorrentes e necessárias. Essas variações são observadas, pois os agricultores de cada localidade têm sua própria forma de realizar o manejo do seu plantio. Além disso, as unidades produtivas são utilizadas pelos agricultores para experimentar modificações que possibilitem a melhoria de seu cultivo. Também é onde buscam características agronômicas desejáveis e ainda para obter maior rentabilidade (LIMA et al., 2013). De acordo com Lima et al. (2012), essa dinâmica confere oscilações na riqueza de variedades, podendo ser ampliada ou reduzida nos roçados influenciada pelos processos de manutenção, incorporação e abandono de variedades pelos agricultores.

A denominação das variedades tradicionais é baseada em diversos referenciais do imaginário local (Tabela 17), e a riqueza de detalhes na descrição das mesmas expressa o valor cultural desta espécie para as comunidades. O caráter organoléptico (cores) é o principal atributo utilizado pelos agricultores

para particularizar cada variedade tradicional de feijão-fava, seguido pelas denominações associadas a recursos da fauna, além disso o tamanho e características humanas também são referenciais para classifica-las.

Tabela 17. Variedades tradicionais de feijão-fava cultivadas em roçados em 19 municípios de do Ceará, Maranhão, Paraíba, Pernambuco e Piauí, Brasil.

Referencial para denominação	Variedade tradicional	Total de citações
Recursos da fauna	Fava-olho-de-ovelha	5
	Fava-orelha-de-onça	1
	Fava-boi	1
	Fava-fígado-de-galinha	2
	Fava-ovo de gola	1
	Fava-caninana	1
	Fava-olho-de-nambré	1
Características humanas	Fava-orelha-de-vó	7
	Fava boca-de-moça	5
	Fava-moça-branca	1
Recursos da flora	Fava-eucalipto	1
	Fava-cogumelo	1
	Fava-coquinho	3
	Fava-moita	3
	Fava-feijão-vagem	1
	Fava-feijão	6
	Fava-mulatinha	5
Atributos organolépticos (Cor)	Fava-branca	10
	Fava-branca sopa	1
	Fava-creme	1
	Fava-amarelinha	1
	Fava-parda ou Fava-vermelha	9
	Fava-vermelhinha	1
	Fava-rajada-vermelha	1
	Fava-preta	7
	Fava-pretinha	1
	Rajada preta	1
	Fava-rajada	2
	Fava-roxa	2
	Fava-roxinha	3
Fava-rosinha	1	
Fava-rajada	2	
Fava-pintada	1	
Tamanho	Fava-branca-grande	1
	Fava-branca-pequena	1
	Fava-grande	3
	Fava-miúda	4
	Fava-média	2

Continua

	Fava-graúda	1
Estados	Fava-bahia	1
	Fava-pernambucana	1
	Fava-cearense	2
	Fava-maranhão	1
	Fava-manteiga	1
Outros	Fava-cara-larga	1
	Fava-olho-grande	1
	Fava-sertaneja	1
	Fava-rajadona	1
	Fava-mudubim	1
	Fava-alvacam	1
	Fava-bacural	1
	Fava-mororó	1
	52	114

Os dados sobre a caracterização das variedades tradicionais pelos agricultores locais revelam aspectos da magnitude desta cultura agrícola na comunidade. A riqueza varietal, de certa forma, é expressa nas denominações atribuídas a cada morfotipo de feijão-fava (Tabela 17), havendo diferentes maneiras de se interpretar esse vínculo cultural e ecológico (LIMA et al., 2013). De acordo com Emperaire (2005), as diferentes denominações dadas a espécie podem apontar detalhes sobre a cultura da comunidade, e ainda evidenciar suas particularidades e sua temporalidade no espaço sociocultural como meio de produção e base de sustentação alimentar.

Denominações genéricas e específicas, com maior detalhamento das variedades, apontam características relevantes sobre o quão perene encontram-se na comunidade. Geralmente, grupos de pessoas formados recentemente imprimem denominações mais superficiais (com referência a cores e a caracteres morfológicos) e agrupamentos humanos mais antigos (por exemplo: agricultores tradicionais) produzem sistemas de denominações mais ricos, o que normalmente também significam riqueza genética. Os dados coletados nos municípios estudados mostram uma mescla nas denominações, o que expressa essa característica temporal no acúmulo de práticas agrícolas tradicionais, cujas denominações estão carregadas de referências ecológicas locais e com relevante riqueza varietal.

Etnoconhecimento do feijão-fava

Quando perguntado se os agricultores acreditavam que os conhecimentos tradicionais sobre o feijão-fava estavam se perdendo com o passar dos anos, 71,43% afirmaram que sim. Os agricultores entrevistados apontam que as novas gerações (filhos, netos e sobrinhos) não têm interesse em aprender sobre o emprego de práticas agrícolas tradicionais da cultura do feijão-fava, sobre o manejo do solo e preparação das unidades produtivas. O êxodo rural entre os jovens é agravado pelo desconhecimento da realidade das grandes cidades, e pelo sentimento de que na zona urbana existem mais oportunidades de emprego e sucesso profissional. Esse processo tem sido denominado por alguns pesquisadores de migração seletiva, que é a frequente saída precoce de jovens do ambiente rural para a os centros urbanos (COSTA; FROELICH, 2014).

A maior problemática gerada com a saída de jovens do campo é a perda de conhecimento tradicional associado a espécies agrícolas, como o feijão-fava. Esse fato tende a aumentar a probabilidade da erosão genética de variedades tradicionais cultivadas em uma dada localidade. O processo de perda de diversidade genética pode ser agravado a longo prazo, pelo desinteresse do cultivo da espécie pelas novas gerações.

Além disso, os agricultores foram questionados se tinham a preocupação de repassar seus conhecimentos sobre a cultura do feijão-fava na sua comunidade, 64,28% afirmaram que possuem interesse. Entretanto, apesar dos esforços, os jovens acabam por sair de suas comunidades e até de sua cidade de origem para buscar emprego nas grandes cidades.

Para tentar contornar essa situação é necessário que a agricultura familiar seja vista como um instrumento de ampliação das oportunidades de emprego e renda para a população rural (ANJOS, CALDAS, 2005). Dessa forma muitas medidas foram sugeridas por Costa, Froelich (2014) como: 1 - estimular a diversificação da produção das famílias rurais, para promover a sustentabilidade rural, e ampliar as oportunidades de renda; 2 – fomentar ações de extensão rural e de crédito para as mulheres e jovens; 3 – incentivar o beneficiamento de produtos primários como forma de agregar valor aos itens produzidos pela agricultura familiar; 4 – implantação ou recuperação de serviços básicos como: saúde, educação, segurança, lazer.

4. Conclusões

Existe diversidade de variedades tradicionais mantida pelos agricultores nas comunidades estudadas. Essa variabilidade é influenciada tanto pelas atividades econômicas como também pelas práticas culturais dos agricultores. Portanto, mudanças nessas atividades podem representar variação na riqueza das variedades tradicionais.

O Ceará foi o estado que apresentou maior riqueza de variedades tradicionais, pois os agricultores desse estado comportam-se como guardiões de sementes, ou seja, mesmo com as pressões do mercado para homogeneização dos cultivos, estes continuam cultivando aquelas que já são habituados.

É possível que as mudanças nas práticas agrícolas tradicionais e as preferências do mercado consumidor tenham influenciado na perda de variedades tradicionais;

Os resultados evidenciam que é provável que em um futuro próximo muitas informações relacionadas ao conhecimento tradicional associado ao feijão-fava sejam perdidas (como forma de plantio, manejo e armazenagem) por não terem sido repassadas à geração mais nova. Essa perda é consequência do processo de êxodo rural dos jovens do campo e de seu desinteresse pela agricultura tradicional.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBUQUERQUE U. P.; LUCENA R.F.P.; LINS NETO E. M. F. Seleção dos participantes da pesquisa. In: ALBUQUERQUE, U. P.; LUCENA, R. F. P.; CUNHA, L. V. F. C., editores. **Métodos e técnicas na pesquisa etnobiológica e etnoecológica**, Recife, PE: NUPPEA, 2010. p. 21-38.

ALMEIDA, P.; SCHMITT, C. Agrobiodiversidade para segurança alimentar: fortalecendo o direito dos agricultores e agricultoras. **Revista de Debate da FASE**, n.119, p.28-35, 2008.

ANJOS, F.; CALDAS, N. V. O futuro ameaçado: o mundo rural face os desafios da masculinização, envelhecimento e desagrarização. **Ensaio FEE**, Porto Alegre, v. 26, n.1, p. 661-694, 2005.

BARBOSA, G. J.; ARRIEL, N. H. C. FEIJÃO-FAVA E A AGRICULTURA FAMILIAR DE SERRARIA, PB. **Cadernos de Ciência & Tecnologia**, Brasília, v. 35, n. 3, p. 387-403, 2018.

BEARDMORE, J. A. Extinction, survival and genetic variation. In: SCHOENWALD-COX, C. M.; CHAMBERS, S. M.; MACBRYDE, B.; THOMAS, L. (eds) **Genetics and conservation**. California: **The Benjamin/ Cummings Publishing Company**, 1983. p. 125–151.

BERENTSEN, P. B. M. et al. Costs and benefits of on-farm nature conservation. **Ecological Economic**. S62, p. 571–579, 2007.

BOEF, W. S.; et al. (orgs.). **Biodiversidade e agricultores: fortalecendo o manejo comunitário**. ed. Porto Alegre: L&PM, 2007. p.271.

CASADO, G. G. I. et al. La recuperación de variedades locales hortícolas en Andalucía (España) como base de la producción agroecológica. In: CASADO, G. G.; MOLINA, M. G.; GUSMÁN, E. S. **Introducción a la agroecología como desarrollo rural sostenible**. Madri, Barcelona, México: Ediciones Mundi-Prensa, 2000. cap. 12, p. 339-362.

COSTA, C.; FROEHLICH, J. M. Políticas públicas e masculinização rural no Rio Grande do Sul: uma abordagem a partir das condições regionais. **Campo-Território**, Uberlândia, v. 9, p. 27, 2014.

CUNHA, A. A. A. O plantio da fava (*Phaseolus lunatus* L.) no saber popular de comunidades rurais em uma área do semiárido brasileiro. 2017. 24f. Trabalho de Conclusão de Curso (Monografia, Especialização em etnobiologia) - Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2017.

DIEGUES, A. C. **O mito moderno da natureza intocada**. 3a ed. São Paulo: Editora Hucitec Ltda, 1996.

EMPERAIRE, L. A biodiversidade agrícola na Amazônia brasileira: recurso e patrimônio. **Revista do Patrimônio Histórico e Artístico Nacional**, n. 32, p. 23-35, 2005.

FAO. The state of the world's plant genetic resources: diversity and erosion. Third World Resurgence. Farmers' Rights and the Battle for Agrobiodiversity. Issue No. 72/ 73. **An excerpt from the Report on the State of the World's Plant Genetic Resources prepared by the FAO Secretariat for the International Technical Conference on Plant Genetic Resources at Leipzig**, Germany, p. 17–23, 1996.

FÓRUM MUNDIAL DE SOBERANIA ALIMENTAR. Havana, Cuba, 2001. Disponível em: < <http://www.viacampesina.org>>. Acesso em: 20 nov. 2018.

FREITAS, A. V. L. et al. Plantas medicinais: um estudo etnobotânico nos quintais do Sítio Cruz, São Miguel, Rio Grande do Norte, Brasil. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 10, n. 1, p. 48-59, 2012.

HOLUBEC; V.; VYMYSLICKÝ, T.; PAPERŠTEIN, F. Possibilities and Reality of *On-farm* conservation. **Czech Journal Genetic Plant Breed.**, v. 46, (Special Issue): p.60–64, 2010.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Levantamento sistemático da produção agrícola**. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/estadosat/temas.php?sigla=pi&tema=lavouratemporaria2017>>. Acesso em 11 jan. 2017.

JARVIS, D. I. et al. A training guide for in situ conservation *on farm*. Version 1. **International Plant Genetic Resources Institute**, Rome, 2000.

LEITE, J. B. V. **Melhoramento genético: coleções de fruteiras e sua importância para o melhoramento genético**. 2005. Disponível em: < <http://www.todafruta.com.br>>. Acesso em: 20 ago. 2016.

LIMA, D.; STEWARD, A.; RICHERS, B. Trocas, experimentações e preferências: um estudo sobre a dinâmica da diversidade da mandioca no Médio Solimões, Amazonas. **Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi**. Ciências Humanas, v. 7, n. 2, p. 371- 396, 2012.

LIMA, P. G. C.; SILVA, R. O.; COELHO-FERREIRA, M. R.; PEREIRA, J. L. G. Agrobiodiversidade e etnoconhecimento na Gleba Nova Olinda I, Pará: interações sociais e compartilhamento de germoplasma da mandioca (*Manihot esculenta* Crantz, Euphorbiaceae). **Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi**. Ciências Humanas, v. 8, n. 2, p. 419 - 433, 2013.

LOPES, A. C. A.; GOMES, R. L. F.; ARAÚJO, R. L. **A cultura do feijão-fava no Meio-Norte do Brasil**. Teresina: EDUFPI, p. 272, 2010.

MAIA, A. G.; BUAINAIN, A. M. O novo mapa da população rural brasileira. **Confins [Online]**, n. 25, 2015. Disponível em: <<http://journals.openedition.org/confins/10548>>. Acesso em: 14 jan. 2017.

MARTÍNEZ-CASTILLO, J. et al. Intraspecific diversity and morpho-phenological variation in *Phaseolus lunatus* L. from the Yucatan Peninsula, México. **Economic Botany**, v. 58, n. 3, p. 354–380, 2004.

MARTÍNEZ-CASTILLO, J.; COLUNGA-GARCÍAMARÍN, P.; ZIZUMBO-VILLARREAL, D. Genetic erosion and in situ conservation of Lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) landraces in its Mesoamerican diversity center. **Genetic Resources Crop Evolution**, n. 55, p. 1065–1077, 2008.

MARTÍNEZ-CASTILLO, J. et al. Genetic Erosion and *In Situ* Conservation of Lima Bean (*Phaseolus Lunatus* L.) Landraces in Mesoamerican Diversity Center. In: AHUJA, M.; JAIN, S. (eds). **Genetic Diversity and Erosion in Plants. Sustainable Development and Biodiversity, Case histories**. Springer - International Publisher Science, v. 8., 2016.

NIEBLA, J. J. S.; SANTAMARÍA, J. F.; CHÁVARRI, A. T. Biodiversidad agrícola, agricultores y erosión genética discursos y disposiciones legales que la condicionan. 2000. En: **Actas del IV Congreso de la Sociedad Española de Agricultura Ecológica: Armonía entre Ecología y Economía**. Córdoba., 2000.

NORGAARD, R. B.; SIKOR, T. O. Metodología y práctica de la agroecología. En Miguel A. Altieri. Agroecología (ed.). **Bases científicas para una agricultura sustentable**. CLADES/ACAO, La Habana: 1997. p. 335.

PAULILO, M. I. S. O peso do trabalho leve. **Ciência Hoje**. v. 5, n. 28, p. 64-70, SBPC: Rio de Janeiro, 1987.

PETERSEN, P.; WEID, J.M.; FERNANDES, G. B. Agroecologia: reconciliando agricultura e natureza. In: **Informe Agropecuário**. Belo Horizonte: Epamig, v. 30, n. 252, p. 7-15, 2009.

PINTON, F. (éd.). Marché en hausse, savoirs en baisse? Diversité variétale du manioc, gestions locales et marché de la farine en Amazonie (Brésil, Guyana). Rapport final pour le Programme Environnement, Viet et Sociétés du CNRS. **Comité Systèmes écologiques et Actions de l'homme**, 2001.

RODRIGUES, A. P.; ANDRADE, L. H. C. Levantamento etnobotânico das plantas medicinais utilizadas pela comunidade de Inhamã, Pernambuco, Nordeste do Brasil. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Campinas, v. 16, n. 3, p. 721-730, 2014.

SANTILLI, J. Conhecimentos Tradicionais Associados à Biodiversidade: elementos para a construção de um regime jurídico sui generis de proteção. In: PLATIAU, Ana F. B; VARELLA, Marcelo Dias (organizadores). **Diversidade Biológica e Conhecimentos Tradicionais**. Belo Horizonte: Editora Del Rey, 2004.

SANTOS, V. S. V.; RAMALHO, P. R.; PÁDUA, P. S. Atividade inseticida de pós vegetais sobre *Zabrotes subfasciatus* (Boheman) (Coleoptera, Chrysomelidae, Bruchidae) em grãos de feijão fava. **Holos**, v. 07, 2018.

SANTOS, N. C. B.; ARF, O.; KOMURO, L. K. Consórcio de feijoeiro e milho-verde na entressafra I - Comportamento das cultivares de feijão. **Biosciencie Jornal**, Uberlândia, v. 26, n. 6, p. 865-872, 2010.

SHIVA, V; LOCKHART, C. (Org.). **The Law of the Seed**. [s.l.]: Navdanya International, 2013. p. 40. Disponível em: <<http://www.navdanya.org/attachments/lawofseed.pdf>>. Acesso em 07/12/2018.

SILVA, C. G. et al. Levantamento etnobotânico de plantas medicinais em área de Caatinga na comunidade do Sítio Nazaré, município de Milagres, Ceará, Brasil. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Campinas, v. 17, n. 1, p. 133-142, 2015.

WORLD HEALTH ORGANIZATION - WHO. Division of Mental Health. **Qualitative research for health programmes**. Geneva: World Health Organization; 1994.

ZEWDE, D. K.; JEMBERE, B. Evaluation of Orange Peel *Citrus Sinensis* (L.) as a Source of Repellent, Toxicant and Protectant against *Zabrotes Subfasciatus* (Coleoptera: Bruchidae). **Momona Ethiopian Journal of Science**, v. 2, n. 1, p. 61-65, 2010.

ZORZETTI, J. et al. Conhecimento sobre a utilização segura de agrotóxicos por agricultores da mesorregião do Norte Central do Paraná. **Semina: Ciências Agrárias, Londrina**, v. 35, n. 4, p. 2415-2428, 2014.

ANEXO A

FORMULÁRIO DE ENTREVISTA

Número da entrevista: _____

DADOS DO AGRICULTOR

Data da Entrevista: ____/____/____

Nome do

agricultor: _____

Idade: _____ Sexo: Masculino () Feminino ()

Cidade: _____ Estado _____

Endereço: _____

Nome da comunidade: _____

Área de estudo: _____

nº de pessoas na casa: _____

QUESTIONÁRIO SOCIOECONÔMICO

Escolaridade: _____

Família: _____

Renda da família: _____ origem da renda: _____

Benefício e/ou financiamento do governo: _____

Participam de cooperativa ou associação: _____

A casa é: () Própria: Tipo: _____

() Alugada: Tipo: _____

() Cedida: Tipo: _____

Principal fonte de renda: _____

Fonte de renda secundária: _____

Quantas pessoas trabalham na roça: _____ faixa etária: _____

Homens () Mulheres ()

Grau de parentesco entre as pessoas que prestam serviços: _____

CLASSIFICAÇÃO TRADICIONAL

1. Você planta feijão-fava? _____

2. Há quanto tempo? _____

3. Quais são os nomes dos seus tipos de feijão-fava? _____

5. O que esses nomes significam?

6. Além de seus tipos de feijão-fava, quantos tipos você conhece? E como são chamados?

7. Por que esses tipos de feijão-fava são chamados desta forma?

8. Por que você prefere para plantar cada um desses tipos de feijão-fava e não outros?

9. Dos tipos de feijão-fava que você conhece, mas não planta no momento, qual você gostaria de plantar?

Por quê?

10. Dos tipos de feijão-fava que você planta, qual (is) tem um gosto melhor?

11. Dos tipos de feijão-fava você possui, qual (is) tem o cozimento mais rápido?

12. Dos tipos de feijão-fava você possui, qual (is) tem o melhor preço no mercado?

13. Dos tipos de feijão-fava você possui, qual (is) tem o maior tamanho?

14. Dos tipos de feijão-fava você possui, qual (is) tem a cor mais bonita?

16. Dos tipos de feijão-fava você possui, qual (is) produz mais sementes?

17. Dos tipos de feijão-fava você possui, qual (is) podem ser colhidas mais cedo?

18. Dos tipos de feijão-fava você possui, qual (is) resistem melhor à seca?

19. Dos tipos de feijão-fava você possui, qual (is) resistem melhor ao gorgulho?

20. Você mantém e seleciona os tipos de feijão-fava pelas razões mencionadas acima?

21. Qual a razão é mais importante para você plantar um tipo de feijão-fava?

22. Além das razões já mencionadas, existe alguma outra razão pela qual você escolhe para plantar um tipo de feijão-fava e não outro? Quais?

MANEJO AGRÍCOLA

1. Qual o tamanho da área plantada com feijão-fava?

2. Qual o Espaçamento utilizado?

3. Qual o modo de preparo da roça?

4. Qual período do ano você planta seus diferentes tipos de feijão-fava?

5. Qual período do ano você colhe seus diferentes tipos de feijão-fava?

6. Qual a área plantada de cada tipo de feijão-fava?

7. Onde você plantar seus diferentes tipos de feijão-fava? e qual a área?

a) No quintal, área?

b) Na roça, área?

c) Outros (onde?)

8. Como são plantados os feijões-fava?

a) Separadamente (cada tipo um local ou diferentes tipos no mesmo local)

b) Em misturas de sementes

c) De outra forma (qual?)

9. Por que você faz desta maneira?

10. Qual tutoramento utilizado para o plantio

11. Usa sempre a mesma área?

() Sim () Não

Caso não use a mesma área, quantos tempo (anos) de pousio você costuma deixar onde planta o feijão-fava?

Você acha possível produzir sem defensivos agrícolas? Se não qual o produto utilizado?

() Sim () Não

12. Qual o tipo de adubo utilizado no plantio?

() Orgânico () Mineral

13. O que utiliza para combater pragas

a) Produtos químicos b) Controle Biológico

c) Soluções caseiras d) Erradicação de mudas infectadas e) Sem combate

14. Qual a frequência da adubação das plantas?

a) No plantio b) Em cobertura c) No plantio e em cobertura

Número de vezes: _____

15. O que utiliza para combater doenças

a) Produtos químicos b) Erradicação das plantas infectadas c) Outros

Quais? _____

16. Com que frequência faz o combate de pragas e doenças?

a) A cada 15 dias b) A cada 30 dias c) Quando há incidência d) Não realiza

17. Utiliza sistema de irrigação? Se sim qual? () sim () Não

18. Quantas vezes irrigam por dia?

a) 1 b) 2 c) 3 d) 4

19. Qual a fonte de água usada na irrigação?

a) Rio b) Açude c) poço cacimbão d) poço artesiano e) Água encanada

20. Já fez alguma análise do solo na sua área?

() Sim () Não

21. Qual o tipo de solo?

a) Argiloso b) Arenoso c) Desconhecido d) Outros

Qual? _____

22. Faz alguma calagem antes do plantio?

() Sim () Não

23. Para o preparo do solo, quais as ferramentas utilizadas?

a) Arado b) Grade c) Enxada Rotativa d) Outros

Qual? _____

24. Recebe alguma orientação técnica?

() Sim () Não

25. De quanto em quanto tempo?

a) Mensalmente b) Trimestralmente c) Anualmente

26. O produtor buscar em algum lugar orientação técnica?

a) Técnicos b) livros c) internet d) Órgãos de Assistência Técnica

27. Que outras culturas você planta junto com o feijão-fava?

a) Milho b) Feijão c) Mandioca d) Macaxeira e) Outros

Qual? _____

28. Qual o destino da produção do feijão-fava?

29. Por que você planta o feijão-fava?

a) Subsistência b) Comercialização c) Ambos d) Outra

Qual? _____

ARMAZENAMENTO DE SEMENTES

1. Como é feito o armazenamento de sementes pós colheita?

(a) _____

(b) _____

2. Como é tratada a semente durante o armazenamento:

Nenhum () natural () Produtos químicos()

Quais? _____

3. Utiliza algum conhecimento tradicional para prevenir pragas e doenças das sementes armazenadas?

Sim () Não ()

Se sim quais? _____

4. Perde sempre semente durante o armazenamento?

Sim () Não ()

Se sim porque? _____

5. Guarda sementes para próxima época de plantio?

Sim () Não ()

6. Qual é o tempo de armazenagem de sementes para próxima época de plantio?

7. Quem seleciona as sementes para a próxima época de plantio?

a) Homem b) Mulher c) todos membros da família d) outros agricultores

8) Quais são os critérios de seleção de sementes: a) Nenhum b) melhores

c) preferidas para alimentação d) preferidas para comercialização e) adaptadas às condições locais?

e) tem controlado a qualidade das sementes armazenadas?

Sim () Não ().

Como tem sido o resultado da germinação no campo?

a) Bom b) Regular c) Mau

COMERCIALIZAÇÃO

1. Onde você comercializa seus feijões-fava?

a) Na cidade b) Fora da cidade c) Ambos

Onde? _____

2. Quais dos seus tipos de feijão-fava são mais comercializados?

3. Quais dos seus tipos de feijão-fava possuem maior preço de mercado?

4. Quanto cada tipo de feijão-fava custa?

5. Conhece alguma praga do feijão-fava? Qual?

6. Conhece algum “bicho” que come a praga? Qual?

7. Como você consome o feijão-fava?

a) Verde b) Seco c) Farinha d) Outro

Qual? _____

8. Você usa o feijão-fava para outra atividade?

a) Artesanato b) Biojóia c) Outra

Qual? _____

9. Tem algum ponto certo de comercialização, ou seja, pra quem vende? Quanto?

a) Diretamente para o consumidor b) Supermercados c) feiras de bairro
d) Políticas públicas

10. A que horas é realizada a colheita?

a) Manhã b) Tarde

11. E como o produto e como é embalado?

a) Jornais b) Sacos plásticos c) Caixas d) Caixotes Outro: _____

12. Qual o veículo de transporte?

() Caminhão () Carro () Motocicleta () Bicicleta Outro: _____

13. Em que estado de qualidade as favas chegam ao destino?

a) Ótima qualidade b) Boa qualidade c) Qualidade mediana d) Péssima

14. A produção de Fava é a principal fonte de renda?

() Sim () Não

15. Faz rotação de culturas?

() Sim () Não

16. O produtor tem algum financiamento de banco?

() Sim () Não

17. Onde o produtor adquire as sementes?

a) Compra b) Multiplicação c) Doação Outro: _____

TRANSMISSÃO DE CONHECIMENTO

1. Como você adquiriu os conhecimentos sobre o manejo do feijão-fava?

a) Através da vivência com seus avós;

b) A partir dos seus pais;

- c) Através da vivência com um morador idoso da comunidade;
- d) Através da vivência com um morador adulto da comunidade;
- e) Na escola;
- f) Outro

2. Você acha que esses conhecimentos estão se perdendo com o passar dos anos?

Sim Não

Porque?

3. No seu ponto de vista, o que pode causar a perda de conhecimento sobre o cultivo do feijão-fava na sua comunidade?

4. Existe preocupação de sua parte em repassar seus conhecimentos sobre a cultura do feijão-fava para os mais jovens ou outras pessoas?

Sim Não

Por que e como você tem feito isso?

5. Conhecer alguma cantiga, lenda ou prosa relacionado com o feijão-fava?

Sim Não