

Universidade Federal do Piauí

**Caracterização citogenética e predição de cruzamentos
intraespecíficos em acessos superiores de *Phaseolus lunatus* L.**

Thales Eduardo Galdino Andrade

**Dissertação apresentada à Universidade
Federal do Piauí como parte das exigências
do Programa de Pós-graduação em Genética
e Melhoramento, para obtenção do título de
“Mestre”.**

**Teresina
2018**

Thales Eduardo Galdino Andrade
Licenciado em Ciências Biológicas

Caracterização citogenética e predição de cruzamentos intraespecíficos em acessos superiores de *Phaseolus lunatus* L.

Orientadora:

Profa. Dra. Ângela Celis de Almeida Lopes

Coorientadores:

Profa. Dra. Lidiane de Lima Feitoza

Prof. Dr. Raimundo Nonato Oliveira Silva

Profa. Dra. Regina Lucia Ferreira Gomes

Dissertação apresentada à Universidade Federal do Piauí como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Genética e Melhoramento, para obtenção do título de “Mestre”.

Teresina
2018

Ficha catalográfica

"Caracterização citogenética e predição de cruzamentos intraespecíficos em acessos superiores de *Phaseolus lunatus* L."

Thales Eduardo Galdino Andrade

Licenciado em Ciências Biológicas

Aprovado em 28/05/2018

Comissão Julgadora:

Pedro Marcos de Almeida

Prof. Dr. Pedro Marcos de Almeida- UESPI

Lidiane de Lima Feitoza

Profa. Dra. Lidiane de Lima Feitoza- CCN/UFPI

Verônica Brito da Silva

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

Regina Lucia Ferreira Gomes

**Profa. Dra. Regina Lucia Ferreira Gomes- CCA/UFPI
(Coorientadora)**

Ângela Celis de Almeida Lopes

**Profa. Dra. Ângela Celis de Almeida Lopes - CCA/UFPI
(Orientadora)**

AGRADECIMENTOS

A Deus, que me ajudou em todos os momentos: me proporcionou estrutura em uma boa universidade, que foi essencial em minha formação; escolheu pessoas incríveis em Recife para me ajudar a concluir essa pesquisa; me presenteou com os melhores amigos, que sempre me guiaram em direção à Sua vontade; me deu uma família maravilhosa que me mostrou o exemplo de independência e luta pelos sonhos; colocou ótimos professores e colegas para me mostrar o caminho na jornada; pôs uma ótima orientadora em minha vida, que me guiou e ajudou em todas as dificuldades, sendo companheira, paciente e motivadora; nos momentos difíceis Ele sempre esteve comigo, nada foi por acaso, tudo foi aprendizagem. Nenhum mérito é meu, tudo é dEle.

“... se não tivesse amor, nada seria.”

(1 Coríntios 13:2)

SUMÁRIO

RESUMO.....	6
ABSTRACT.....	8
LISTA DE FIGURAS.....	10
LISTA DE TABELAS.....	11
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....	12
1 INTRODUÇÃO.....	13
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	15
2.1 Phaseolus lunatus.....	15
2.1.1 Origem e domesticação.....	15
2.1.2 Importância econômica.....	17
2.1.3 Caracterização morfoagronômica.....	19
2.1.4 Resistência a patógenos.....	21
2.2 Melhoramento genético.....	23
2.3 Caracterização citogenética.....	26
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	29
3.1 Seleção dos acessos.....	29
3.2 Caracterização citogenética.....	34
3.2.1 Obtenção das raízes, pré-tratamento e fixação.....	34
3.2.2 Bandeamento com fluorocromos CMA e DAPI.....	34
3.2.3 Fotodocumentação, morfometria dos cromossomos e dos blocos de CMA.....	35
3.3 Ordenação dos cruzamentos propostos.....	35
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	37
5 CONCLUSÕES.....	56
REFERÊNCIAS.....	57
ANEXO.....	70

RESUMO

ANDRADE, T. E. G. **Caracterização citogenética e predição de cruzamentos intraespecíficos em acessos superiores de *Phaseolus lunatus* L.** 71f. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento) – Universidade Federal do Piauí, 2018.

O gênero *Phaseolus* é um dos 222 gêneros da Família Fabaceae, originário da Mesoamérica e tem o feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.) como sua segunda espécie mais estudada e de importância socioeconômica. O feijão-fava é uma espécie importante na agricultura de subsistência, nos ambientes tropicais úmidos da América, assim como, uma fonte de nutrientes para populações rurais na América do Sul e África, oferecendo oportunidades para o desenvolvimento de pequenos e médios produtores agrícolas. Além disso, essa espécie também é reconhecida como fonte de proteínas, carboidratos, ferro, cálcio, fibra da dieta básica humana, com baixo conteúdo de gorduras e com o potencial na prevenção de doenças cardiovasculares. No Brasil, a região Nordeste foi responsável por 99,17% do valor da produção no país, onde os genótipos utilizados por produtores são variedades crioulas, não havendo uso de variedades melhoradas, mesmo sendo necessário, pois há relatos de problemas relacionados à baixa produtividade havendo desuniformidade na maturação, susceptibilidade a pragas e doenças, entre outros. O presente trabalho objetivou caracterizar citogeneticamente 24 acessos de feijão-fava (*P. lunatus* L.) do Banco Ativo de Germoplasma de *Phaseolus* com características agronomicamente desejáveis, a fim de identificar os possíveis cruzamentos mais favoráveis com base na localização e mensuração da heterocromatina. Os acessos selecionados apresentaram as características: hábito de crescimento determinado, poucos dias para floração, elevado número de vagens por planta, elevado número de sementes por vagem, grande volume das sementes, alta produtividade, resistência à antracnose e à *Macrophomina*. Foram observados e mensurados os padrões de heterocromatina constitutiva como forma de diferenciação dos genótipos e ordenação de cruzamentos intraespecíficos dirigidos. O cariótipo se mostrou estável quanto ao número e tamanhos cromossômicos, porém houve variação no padrão de bandas e na proporção da heterocromatina constitutiva, variando de 21,1% a 38,77% do genoma total. Conclui-se que a técnica de dupla coloração com fluorocromos CMA e DAPI é

eficaz na caracterização citológica de feijão-fava; a espécie exibe variação no padrão de heterocromatina constitutiva em diferentes genótipos; as informações providas têm importância para programas de melhoramento.

Palavras-chave: Feijão-fava; Fluorocromos; Heterocromatina; Melhoramento Genético; Recursos Genéticos.

ABSTRACT

ANDRADE, T. E. G. **Cytogenetic characterization and prediction of intraspecific crosses in *Phaseolus lunatus* L. superior accessions.** 71p. Dissertation (Master's degree in Genetics and Breeding) – Universidade Federal do Piauí, 2018.

The genus *Phaseolus* is one of the 222 genera of Fabaceae, originated in Mesoamerica and has Lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) as its second most studied species and socioeconomically important. Lima bean is important in the subsistence agriculture in the humid tropical environments of America as well as a source of nutrients for rural populations in South America and Africa, offering opportunities for the development of small and medium producers. In addition, it is also recognized as a source of protein, carbohydrates, iron, calcium, human dietary fiber, low fat content and potential in the prevention of cardiovascular diseases. In Brazil, the Northeast region was responsible for 99.17% of the value of production in the country, where the genotypes used by producers are landraces, and there is no use of improved varieties, even though it is necessary, as there are reports of problems related to low productivity, unevenness in maturation, susceptibility to pests and diseases. The present work aimed to characterize cytogenetically 24 accessions of Lima bean with agronomically desirable characteristics, in order to identify the most favorable crosses based on the location and measurement of heterochromatin. The accessions characteristics were: determined growth habit, few days for flowering, a high number of pods per plant, a high number of seeds per pod, a large seed volume, a high productivity, anthracnose resistance and *Macrophomina* resistance. Constitutive heterochromatin patterns were observed and measured as a way of genotype differentiation and ordered intraspecific crosses. The karyotype was stable in terms of number and chromosome sizes, but there was variation in the pattern of bands and in the proportion, ranging from 21.1% to 38.77% of the total genome. It is concluded that the dual staining technique with fluorochromes CMA and DAPI is effective in the cytological characterization of Lima bean; the species exhibits variation in constitutive heterochromatin pattern in different genotypes; the information provided is important for breeding programs.

Keywords: Lima bean; Fluorochromes; Heterochromatin; Genetical enhancement; Genetic Resources.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 – Distribuição geográfica dos 24 acessos de feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.) com características agronômicas superiores, do Banco Ativo de Germoplasma de *Phaseolus*.....31
- Figura 2 – Acessos de feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.) com características agronômicas superiores, do Banco Ativo de Germoplasma de *Phaseolus*. Barra = 1cm.....33
- Figura 3 – Dupla coloração com CMA/DAPI em dezesseis acessos de feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.) com características agronômicas superiores. Setas indicam blocos de CMA marcando os blocos de heterocromatina principalmente na região pericentroméricas dos cromossomos. Cabeças de seta indicam pequenos blocos de CMA que podem estar associados com regiões organizadoras de nucléolo (RONs). Barra = 10 μ m.....38
- Figura 4 – Dupla coloração com CMA/DAPI em oito acessos de feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.) com características agronômicas superiores. Setas indicam blocos de CMA marcando os blocos de heterocromatina principalmente na região pericentroméricas dos cromossomos. Cabeças de seta indicam pequenos blocos de CMA que podem estar associados com regiões organizadoras de nucléolo (RONs). Barra = 10 μ m.....39
- Figura 5 – Idiogramas de 24 acessos superiores de Feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.) do Banco Ativo de Germoplasma de *Phaseolus*.....40
- Figura 6 – Proposta de três ciclos de cruzamentos para o melhoramento de acessos de feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.) ordenados com base em análises citogenéticas do padrão heterocromático.....50
- Figura 7 – Organização do Ciclo 1-A para cruzamento de acessos de feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.), com previsão dos blocos heterocromáticos no cariótipo dos híbridos F₁.....51
- Figura 8 – Organização do Ciclo 1-B para cruzamento de acessos de feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.), com previsão dos blocos heterocromáticos no cariótipo dos híbridos F₁.....52
- Figura 9 – Organização do Ciclo 1-C para cruzamento de acessos de feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.), com previsão dos blocos heterocromáticos no cariótipo dos híbridos F₁.....53

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 – Identificação dos 24 acessos de feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.) do Banco Ativo de Germoplasma de *Phaseolus* com características agronômicas superiores, locais de origem e referência de caracterização. CD = Crescimento Determinado. PDF = Poucos dias para floração. ANVP = Alto Número de vagens por planta. ANSV = Alto Número de sementes por vagem. GVS = Grande Volume da Semente. APRODP = Alta Produtividade por Planta. RA = Resistente à antracnose. RM = Resistente à *Macrophomina*.....30
- Tabela 2 – Caracterização citogenética de 24 acessos de feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.) com características agronômicas superiores. Número cromossômico diploide, tamanho médio dos cromossomos do conjunto, intervalo do tamanho cromossômico (ITC), fórmula cariotípica (FC, onde M = metacêntricos e SM = submetacêntricos) e porcentagem de heterocromatina no conjunto.....45
- Tabela 3 – Seleção de acessos superiores de *Phaseolus lunatus* L. do Banco Ativo de Germoplasma de *Phaseolus* com base na porcentagem de heterocromatina observada em núcleos metafásicos. Destacados em negrito se encontram marcados os acessos selecionados de cada característica.....48
- Tabela 4 – Previsão de heterocromatina nos híbridos intraespecíficos de feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.), com base em 24 acessos com características agronomicamente superiores do Banco Ativo de Germoplasma de *Phaseolus*. Em vermelho, marcados os valores de heterocromatina esperados nos híbridos das figuras 7, 8 e 9.....54

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CMA	Cromomicina A3
DAPI	4'-6-diamidino-2-fenilindol
AT	Adenina e timina
GC	Guanina e citosina
FISH	Fluorescent <i>in situ</i> Hybridization
BAC	Bacterial Artificial Chromossomes
HaC	Hábito de crescimento
CD	Crescimento determinado
NDF	Número de dias para floração
PDF	Poucos dias para floração
NVP	Número de vagens por planta
ANVP	Alto número de vagens por planta
NSV	Número de sementes por vagem
ANSV	Alto número de sementes por vagem
CG	Comprimento do grão
LG	Largura do grão
EG	Espessura do grão
GVS	Grande volume das sementes
PROPD	Produtividade por planta
APRODP	Alta produtividade por planta
NDM	Número de dias para maturação
CV	Comprimento da vagem
LV	Largura da vagem
NLV	Número de lóculos por vagem
P100	Peso de 100 sementes
RA	Resistência à antracnose
RM	Resistência à <i>Macrophomina</i>

1. INTRODUÇÃO

O gênero *Phaseolus* é um dos 222 gêneros da Família Fabaceae (FLORA DO BRASIL, 2018). Originário da Mesoamérica, e tem o feijão-comum (*P. vulgaris* L.) e o feijão-fava (*P. lunatus* L.) como suas espécies mais importantes e amplamente estudadas, as quais estão entre as plantas cultivadas mais antigas do novo mundo, com achados arqueológicos de domesticação de até 5600 anos atrás (KAPLAN; LYNCH, 1999).

Economicamente, o feijão-fava é uma espécie importante na agricultura de subsistência nos ambientes tropicais úmidos da América e oferece oportunidades para o desenvolvimento de pequenos e médios produtores agrícolas, apresentando-se como uma alternativa sustentável na produção de alimentos para ser inserida no âmbito social, econômico e cultural (CHEL-GUERRERO et al., 2012; MOSES et al., 2012). Tem importância como fonte de proteínas, carboidratos, ferro, cálcio, fibra da dieta básica humana, com baixo conteúdo de gorduras, possuindo propriedades funcionais de grande interesse, reconhecida na área da saúde, com o potencial na prevenção de doenças cardiovasculares, por isso, destaca-se como uma alternativa na produção de alimentos fisiologicamente funcionais, com propriedades anti-hipertensivas (CHEL-GUERRERO et al., 2012; MOSES et al., 2012; MARTÍNEZ-CASTILLO, 2015; SEIDU et al., 2015; SANTOS et al., 2009).

A região Nordeste brasileira é responsável pela maior parte da produção de feijão-fava, representando 98,68% da área plantada no ano de 2016, sendo a responsável por 99,17% do valor da produção no país (IBGE, 2016). Em 2016, os principais produtores foram os estados da Paraíba, Ceará, Pernambuco, Rio Grande do Norte e Piauí com produções de 1.238, 919, 699, 291 e 215 toneladas de grãos secos, respectivamente (IBGE, 2016).

O germoplasma utilizado por esses produtores no nordeste do Brasil provém de suas próprias colheitas e do câmbio entre comunidades rurais, são genótipos cultivados por longo tempo, consideradas variedades crioulas (SILVA et al., 2015), não havendo uso de variedades resistentes a estresses bióticos e abióticos ou com boa produtividade.

Caracterizações morfoagronômicas de acessos de feijão-fava já identificaram variedades crioulas com características superiores para melhores ganhos em produção, crescimento determinado, elevado número de vagens por planta, elevado

número de sementes por vagem, poucos dias para floração, com sementes grandes, alta produtividade por planta e com níveis de resistência aos fungos *Colletotrichum truncatum* e *Macrophomina phaseolina* (SILVA, 2011a; SILVA, 2011b; ASSUNÇÃO-FILHO, 2012; PIRES, 2014; CARMO, 2015; BRITO, 2017; MUNGUÍA, 2017).

Além de caracterizações morfoagronômicas, são necessários outros estudos genéticos desses acessos. Dentre os quais, caracterização citogenética, pois, através do cariótipo é possível determinar o número e comportamento dos cromossomos, níveis de ploidia, fertilidade dos grãos de pólen, formação do complexo sinaptonêmico, quiasmas e formação dos gametas haploides, auxiliando na identificação e escolha de genótipos para serem utilizados em cruzamentos dirigidos com maior estabilidade meiótica (SINGH, 2017; LAVINSCKY et al., 2017).

Tal ferramenta se mostra importante na caracterização de acessos superiores, uma vez que contribui em diversas áreas, direta e/ou indiretamente, como: realização de cruzamentos dirigidos em programas de melhoramento; produção de alimentos; conhecimento do comportamento da espécie em condições de seleção; otimização das técnicas de melhoramento em espécies autógamas; para a manutenção da variabilidade genética existente.

No presente trabalho, objetivou-se realizar a caracterização citogenética de acessos superiores de feijão-fava do Banco Ativo de Germoplasma de *Phaseolus* da Universidade Federal do Piauí, a fim de observar e mensurar os padrões de heterocromatina constitutiva, como forma de diferenciação dos genótipos e ordenação de cruzamentos intraespecíficos.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 *Phaseolus lunatus* L.

2.1.1 Origem e Domesticação

Durante décadas, estudos abordando a origem, evolução e diversidade de espécies vegetais têm apontado a Mesoamérica com um dos principais centros de origem de agricultura e domesticação do mundo, incluindo as espécies do gênero *Phaseolus* (VAVILOV, 1926; MACNEISH, 1958, 1962; HARLAN, 1975; KARL, 1984; FLANNERY, 1986; MACNEISH, 1992; GUTIÉRREZ-SALGADO et al., 1995; LIOI et al., 1996, 1998, 1999, 2002; FOFANA et al., 1997, 1999, 2001; MAQUET et al., 1997, 1999; GEPTS, 1998; RANERE et al. 2009; ZIZUMBO-VILLARREAL; COLUNGA-GARCÍAMARÍN, 2010;).

Dentre os processos evolutivos e adaptativos, a domesticação é um dos principais, pois tem influência direta sobre os demais, assim como, sobre a diversidade. A domesticação pode ser definida como um processo contínuo com possibilidade de ocorrência em populações vegetais silvestres manipuladas pelo ser humano, pode ser vista como um misto de processos demográficos e forças evolutivas, que elevam a adaptação dessas populações para ambientes humanos. É geralmente considerada como o ponto final de um processo que se inicia com a exploração de plantas silvestres, continua através do cultivo de plantas selecionadas dentre as silvestres, e termina na fixação, através de seleção humana, de diferenças morfológicas e genéticas distinguindo uma domesticada de seus progenitores silvestres (HARLAN, 1975; GEPTS, 2004; CLEMENT, 2010; PURUGGANAN; FULLER, 2009; LARSON; BURGER, 2013; MEYER; PURUGGANAN, 2013; WANG et al., 2017)

Os genótipos domesticados apresentam algumas características similares que garantem o potencial produtivo para benefício humano (CARVALHO et al., 2014). Estas características constituem a síndrome da domesticação e inclui a perda de dispersão; aumento no tamanho da estrutura vegetal, perda de dormência das sementes e perda das proteções químicas e mecânicas contra herbívoros. Assim, as espécies domesticadas se tornam completamente dependentes da manutenção humana para sua sobrevivência e reprodução, resultando no estabelecimento de *pools* gênicos distintos que ficam sob seleção humana e em oposição à seleção natural (PICKERSGILL, 2007; HENRY, 2014).

O mais antigo achado arqueológico de domesticação de feijão-fava data mais de 3.500 anos atrás em Guitarrero e 5.600 anos atrás em Chilca, ambos no Peru e em um contexto pré-cerâmico (KAPLAN; LYNCH, 1999). Na Mesoamérica, o mais antigo registro data mais de 1.300 anos atrás em Dzibichaltún, na Península de Yucatán, Mexico (KAPLAN 1965).

Inicialmente, acreditava-se haver dois principais centros de domesticação, denominados Andino e Mesoamericano (GUTIÉRREZ-SALGADO et al., 1995; MOTTA-ALDANA et al., 2010). Então, com estudos posteriores começou-se a considerar a existência de três maiores *pools* gênicos na extensão de distribuição natural de *P. lunatus* L.: Andino (AI), Mesoamericano I (MI) e Mesoamericano II (MII) (SERRANO-SERRANO et al., 2010, 2012; ANDUEZA-NOH et al., 2013). Adicionalmente, com base em suas análises posteriores, Martínez-Castillo et al. (2014) propuseram a existência de dois subgrupos dentro do *pool* gênico mesoamericano I (MI), chamados de MIa e MIb, com sobreposição em sua distribuição geográfica, propondo então três *pools* gênicos, com a seguinte conformação: MI (MIa e MIb), MII e AI, cada um com alto nível de diversidade genética. Chacón-Sánchez e Martínez-Castillo (2017) sugeriram a existência de quatro *pools* gênicos: o mesoamericano I (MI: MIa e MIb), mesoamericano II (MII), o andino I (AI) e o andino II (AII), sugerindo estudos suplementares para confirmação de tal configuração dos *pools* gênicos.

Os *pools* gênicos sugeridos se distribuem da seguinte forma: o MI, ocorre no centro-oeste do México ao norte e oeste do Ístimo de Tehuantepec; o MII é encontrado no México ao sul e leste do Ístimo de Tehuantepec, ao longo das planícies costeiras do Golfo do México, América Central, norte da América do Sul, sul do Peru, Bolívia, e norte da Argentina; o AI está distribuído em um delimitação geográfica nos Andes, do Equador ao norte do Peru e o AII se encontra no centro da Colômbia (CHACÓN-SANCHEZ; MARTÍNEZ-CASTILLO, 2017).

Coleções obtidas do Brasil têm mostrado que a diversidade genética, refletida no número de variedades crioulas e variação morfológica nas sementes, pode ser tão alta quanto a descrita na Península de Yucatán, região considerada como um centro de diversidade do *pool* gênico mesoamericano (MARTÍNEZ-CASTILLO et al., 2008, 2012, 2014).

Andueza-Noh et al. (2015) observaram que as variedades crioulas mesoamericanas coletadas na América do Sul não estão relacionadas geneticamente

com as populações silvestres coletadas no México e América Central. Isso sugere que as variedades crioulas da América do Sul podem ter sido domesticadas de populações silvestres sulamericanas ainda não coletadas. Silva et. al (2017), utilizando acessos brasileiros, perceberam a presença de acessos com características intermediárias entre os *pools* gênicos andino e mesoamericano. Duas possíveis explicações são elucidadas: primeiramente, a atuação do Brasil como uma zona híbrida onde as variedades crioulas dos *pools* gênicos andino e mesoamericano estão se desenvolvendo simpatricamente; ou então a possibilidade do Brasil ser um centro de domesticação para feijão-fava.

No entanto, para confirmar a hipótese sobre o evento de domesticação na América do Sul é necessário fazer investigações mais aprofundadas incluindo mais acessos, especialmente acessos silvestres, indicados como existentes no Brasil por Andueza-Noh (2015), assim como, utilizar técnicas moleculares analisando sequências cloroplastidiais e do DNA ribossomal (SERRANO-SERRANO et al., 2012; ANDUEZA-NOH et al., 2013).

2.1.2 Importância econômica

As espécies do gênero *Phaseolus* estão entre as plantas cultivadas mais antigas do novo mundo, sendo cultivadas em sistemas de monocultura, em consorciação com outras culturas ou em rotação de culturas em regiões de média e baixa altitudes das Américas, encontradas em até 3000 metros de altitude. A consorciação é favorecida pelo uso de cultivares com crescimento determinado, oferecendo uma competição reduzida durante os anos em que a cultura principal (ex.: café) se desenvolve (BROUGHTON et al., 2003). Plantas de crescimento indeterminado também favorecem a consorciação, por sua necessidade em suporte para o desenvolvimento, sendo que no Brasil é comumente utilizado o milho crioulo.

O feijão-fava é a segunda espécie mais importante economicamente do gênero cultivada mundialmente (CHACÓN-SÁNCHEZ, 2017; CAMACHO-PÉRES, 2018), pelo seu papel na agricultura de subsistência nos ambientes tropicais úmidos da América e como fonte de nutrientes para populações rurais na América do Sul e África (SILVA et al., 2015), que oferece amplas oportunidades para o desenvolvimento de pequenos e médios produtores agrícolas, assegurando o resgate de recursos genéticos. É alternativa sustentável na produção de alimentos para ser inserida no âmbito social, econômico e cultural, sendo parte das fontes de proteína, carboidratos,

ferro, cálcio, fibra da dieta básica humana, destacando-se como uma alternativa na produção de alimentos fisiologicamente funcionais, com propriedades anti-hipertensivas (SANTOS et al., 2009; CHEL-GUERRERO et al., 2012; MOSES et al., 2012; MARTÍNEZ-CASTILLO, 2015; SEIDU et al., 2015).

Internacionalmente, os Estados Unidos da América têm destaque por sua capacidade produtiva de feijão-fava, chamado de “lima bean, big lima, baby lima e butter bean”, resultado de pesquisas no desenvolvimento de variedades adaptadas, de porte ereto, ciclo curto e resistência a doenças, dos investimentos nos estudos de práticas de manejo e uso intensivo de tecnologias (LONG et al., 2014; USDA-NASS, 2016).

No Peru, há cultivo na região de Ica de uma variedade de feijão-fava de sementes brancas de grande tamanho e baixa quantidade de ácido cianídrico para exportação, conhecido como “pallar”. Pelo tamanho dos grãos, qualidade e demanda internacional, foi concedida à essa região a denominação de centro de origem dessa cultura de feijão-fava (CABRERA; SILVA, 2008). O feijão-fava também é cultivado e consumido no Equador, chamado de “haba pallar”; em Cuba, conhecido como “frijol caballero” (CASTIÑEIRAS et al., 2008); e no Brasil, é popularmente conhecido por “feijoal, bongue, mangalô-amargo, fava-Belém, fava-terra, feijão-espadinho, feijão-farinha, feijão fígado de galinha ou feijão-favona”, dependendo da região (LOPES et al., 2010; CARMO et al., 2013; SILVA et al., 2015).

No Brasil, os estados do semiárido nordestino têm o feijão-fava como uma das principais leguminosas (NASCIMENTO et al., 2017), sendo Paraíba, Ceará, Pernambuco, Rio Grande do Norte e Piauí os maiores produtores, com produções de 1.238, 919, 699, 291 e 215 toneladas de grãos secos, respectivamente (IBGE, 2016). A produtividade média do estado do Piauí foi de 124, 170, 347 e 162 kg/ha para os anos 2016, 2015, 2014 e 2013 (IBGE, 2016).

A oscilação observada nos dados de produção de feijão-fava se deve principalmente à sua sensibilidade ao déficit hídrico, em consonância com o cultivo em regime de sequeiro, acompanhado pelo pouco uso de tecnologias por agricultores familiares. Dessa forma, se tornam incertos os níveis de produção anuais devido às variações pluviométricas (OLIVEIRA et al., 2014).

Nos últimos dez anos, os registros produtivos indicam que o preço do feijão-fava aumentou (IBGE, 2016), tornando-se uma cultura economicamente mais atrativa. A região Nordeste brasileira é responsável pela maior parte da produção de feijão-

fava, representando 98,68% da área plantada no ano de 2016, sendo a responsável por 99,17% do valor da produção no Brasil (IBGE, 2016). No entanto, no Nordeste brasileiro, há elevada instabilidade produtiva, o que resulta na grande flutuação da produção de feijão-fava observada na última década de registros, onde o desvio padrão das produções anuais foi de 5.819,99 toneladas, um valor bastante superior até à produção anual de 2016 que foi 3.609 toneladas (IBGE, 2016).

O germoplasma utilizado pelos produtores no nordeste do Brasil é originário de suas próprias colheitas e comercialização entre comunidades rurais. Esses são genótipos cultivados há muito tempo, consideradas variedades crioulas, utilizadas principalmente as de crescimento indeterminado (CARMO et al., 2015; SILVA et al., 2015), pois não há variedades melhoradas geneticamente.

Nesse contexto, verifica-se a necessidade do melhoramento genético para desenvolvimento de cultivares de feijão-fava destinadas a populações que as utilizam para subsistência. A produção agrícola enfrenta um crescimento na demanda mundial de alimentos pela população em constante crescimento e pelo forte aumento per capita do consumo devido ao desenvolvimento econômico dos países (HENRY, 2010). Análises do atual aumento na produtividade nas espécies cultivadas mais importantes, sugerem que o crescimento em produção não será suficiente para satisfazer o crescimento previsto em demanda (RAY et al., 2012, 2013; HENRY 2014). Inclusive, por conta das mudanças climáticas e instabilidade ambiental que têm influenciado diretamente a produção agrícola exibindo a necessidade de genótipos adaptados (KHANAL; MISHRA, 2017).

2.1.3 Caracterização morfoagronômica

A caracterização e avaliação de germoplasma são essenciais para se conhecer a diversidade genética entre os genótipos, fundamental para o uso correto dos recursos genéticos e nos dá importantes informações para a criação de bancos de germoplasma, conservação desses recursos e utilização em programas de melhoramento, visando o contínuo desenvolvimento de variedades melhoradas mais produtivas e com resistência a doenças (LOARCE et al., 1996; ELIAS et al., 2007; GUIMARÃES et al., 2007; MONTERO-ROJAS et. al, 2013; GONÇALVES et al., 2014; BERTOLDO et al., 2015; SILVA, 2015; EMBRAPA, 2015; OLIVEIRA; QUEIRÓZ, 2016; TALHINHAS et al., 2016).

Alguns dos caracteres que permitem a identificação do feijão-fava (*P. lunatus* L.) são a germinação epígea, ocorrendo usualmente dentre seis e dez dias após a sementeira. Os cotilédones emergem entre nove e 14 dias. O primeiro par de folhas são unifoliadas e emerge entre 13 e 14 dias, sendo as folhas geralmente em tons mais escurecidos em comparação de outras espécies do mesmo gênero, bractéolas pequenas e pontiagudas. Pode apresentar dois hábitos de crescimento, a saber: determinado que é caracterizado pelo desenvolvimento total da gema apical em uma inflorescência; indeterminado, caracterizado pelo desenvolvimento da gema terminal em uma guia. A planta apresenta uma alta produção de flores por dia, vagens compridas e geralmente de forma oblonga e recurvada. O número de sementes por vagens pode ser de duas a quatro (ZIMMERMANN; TEIXEIRA, 1996; KEE et al., 1997; OLIVEIRA et al., 2015;).

Em *P. lunatus* foi descrita ampla variação morfológica para caracteres qualitativos, assim como grande variabilidade para larguras da folha primária e do folíolo central, dias para a floração, peso de 100 sementes e longitudes da vagem, da folha primária e do folíolo central (LÓPEZ-ALCOCER et al., 2016).

As caracterizações morfoagronômicas além de fornecerem conhecimento sobre a diversidade, auxiliam na identificação e seleção de genótipos com características agronomicamente favoráveis, como: crescimento determinado (para finalidade de coleta mecanizada); crescimento indeterminado (permite a colheita durante um período de várias semanas, segundo Montero-Rojas et al. (2013)); alto número de vagens por planta; alto número de sementes por vagem; grande volume das sementes (para a produção de pastas alimentares); poucos dias para floração; poucos dias para maturação das vagens e resistência a patógenos.

Caracterizações morfoagronômicas de genótipos de feijão-fava já identificaram variedades crioulas superiores para aumento de produtividade. Carmo (2011) descreveu acessos com características de crescimento determinado; Silva (2011b) identificou acessos superiores, dessa vez para elevado número de vagens por planta e número de sementes por vagem; Silva (2011a) reportou acessos com caracteres desejáveis para elevado número de sementes por vagem, poucos dias para floração e sementes grandes; Assunção-Filho (2012) realizou caracterizações morfoagronômicas que permitiram identificar acessos com alta produtividade por planta; Pires (2014) descreveu um acesso com caracteres desejáveis como poucos dias para floração e alto número de sementes por vagem.

Acessos com fenótipos similares não necessariamente têm uma relação genética próxima (MARITA et al., 2000) por conta das propriedades poligênicas da maioria das características e o efeito do ambiente na expressão da característica analisada.

2.1.4 Resistência à patógenos

O conhecimento existente sobre os agentes etiológicos de doenças no feijão-fava é ainda escasso (CARVALHO et al., 2015). Contudo, há muitas doenças que afetam essa cultura e são responsáveis pela redução da produtividade, destacando-se o mofo branco (BOECHAT et al., 2014), podridão de raiz e do colo (SILVA et al., 2010), mancha angular (GARCIA; ROMEIRO, 2011) e antracnose (CAVALCANTE et al., 2012; MOTA et. al, 2017).

A antracnose é uma doença ocasionada por fungos que podem causar perda de até 100% da produção, principalmente em condições favoráveis ao patógeno, como elevada umidade e temperatura (SILVA et al., 2013). Em feijão-fava, a antracnose é causada pela espécie *Colletotrichum truncatum* e os sintomas se caracterizam como manchas avermelhadas inicialmente observadas ao longo das nervuras, na face inferior das folhas e sobre hastes e pecíolos jovens, resultando em folhas encarquilhadas e plantas subdesenvolvidas, vagens com lesões deprimidas, grandes e marrom-escuras com bordas vermelho-arroxeadas, sobre as quais se formam os acérvulos do patógeno, com aspecto esbranquiçado (NOETZOLD et al., 2014; CARMO et al., 2015). Esses sintomas geram uma redução na produção e qualidade de vagens e grãos prejudicando a comercialização (CARMO, 2015). Havendo ainda grande possibilidade de sobrevivência do fungo nas sementes e restos da cultura durante aproximadamente dois anos (COSTA, 1986; PAPP, 1980).

A ocorrência de microrganismos associados a sementes ocasiona a redução do vigor e à emergência de mudas com baixa produtividade (PARSA et al., 2016). Além disso, sementes infectadas têm potencial para disseminar o patógeno a novas áreas de cultivo, o que pode gerar uma epidemia (OLIVEIRA et al., 2013; MOTA, 2017).

A forma mais efetiva de controle desse fungo têm sido a utilização de plantas apresentando níveis de resistência à antracnose, sendo economicamente viável por seu baixo custo e sem efeitos negativos ao ambiente, em comparação ao controle químico (ABREU et al., 2007; ROCHA et. al, 2012; SOUSA et. al, 2013).

Em busca por materiais resistentes à antracnose ou combate à severidade da doença, grupos de pesquisa têm se empenhado em avaliar acessos de *P. lunatus*, principalmente no nordeste do Brasil. Carmo et al. (2015), Santos et al. (2015), Brito (2017), Feijó et al. (2017), Mota et al. (2017), Nascimento et al. (2017) e Sousa et al. (2018) fizeram avaliações de acessos e/ou relataram a ocorrência do fungo *C. truncatum* em feijão-fava e/ou descreveram acessos superiores com níveis de resistência ao fungo e/ou propuseram métodos para análises posteriores e reconhecimento de tais acessos.

Outro patógeno que afeta o cultivo de feijão-fava é o fungo *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid, que pertence ao filo Ascomycota, família Botryosphaeriaceae e é o principal representante do gênero *Macrophomina* (GUPTA et al., 2012; PHILLIPS et al., 2013; SLIPPERS et al., 2013). Esse fungo é o agente etiológico da doença conhecida como podridão cinzenta do caule ou podridão de carvão e ocorre em mais de 500 espécies botânicas, afetando leguminosas e gramíneas, amplamente distribuído no mundo, associado a sementes e ao solo, infectando plantas em qualquer estágio de desenvolvimento, variando em nível de severidade de acordo com o órgão, estágio e condições ambientais (KAUR et al., 2012; IQBAL; MUKHTAR, 2014).

No ano de 2016, esse fungo foi descrito pela primeira vez para o feijão-fava no Brasil (SOUSA, 2016), apresentando junto com *C. truncatum* (fungo causador da antracnose), os maiores índices de incidência entre os patógenos encontrados em acessos de feijão-fava. Incidência de 1,58% foi encontrada em amostras de sementes coletadas do Nordeste do país (MOTA, 2016).

Munguía (2017) relatou três acessos com níveis de resistência ao fungo, depositados no Banco Ativo de Germoplasma de *Phaseolus* (BGP-UFPI): UFPI 892, UFPI 908 e UFPI 905. Apesar de não ter sido encontrada resistência estável para os sete isolados, os acessos expressam resultados promissores que podem ser utilizados em programas de melhoramento genético.

Para o feijão-fava, ainda não foram desenvolvidas cultivares melhoradas no Brasil. A primeira etapa para o desenvolvimento de um programa de melhoramento visando obtenção e utilização de cultivares resistentes é identificar as fontes de resistência (CAMARGO; BERGAMMIN FILHO, 2011).

A combinação de diferentes genes de resistência à patógenos na mesma cultivar têm sido proposta como uma estratégia importante para obtenção de uma

resistência genética durável e efetiva, seja a partir do melhoramento clássico, melhoramento moderno com uso de marcadores moleculares ou utilização de pirâmides de genes de resistência (JOHNSON, 1984; STAVELY; PASTOR-CORRALES, 1989; KELLY et al., 1995; MICHELMORE, 1995; BIGIRIMANA; HOFTE, 2001; SINGH et al., 2001; PASTOR-CORRALES; STAVELY, 2002; FALEIRO et al., 2003; TOENNIESSEN et al., 2003; ARAYA et al., 2004; SOUZA et al., 2005, 2007).

2.2 Melhoramento genético

Durante muito tempo, o melhoramento genético vegetal foi realizado de maneira empírica, muitos autores consideram essa fase do melhoramento como arte, visto que tudo era baseado nas observações visuais ou fenotípicas. Com o surgimento dos trabalhos clássicos de genética, o melhoramento genético vegetal passou a ser realizado com forte embasamento teórico, sendo então considerado como ciência (NASS, 2007).

Para incentivar os programas de melhoramento, é importante se levantar debates associados às falhas na produção de alimentos, principalmente quando não se têm variedades com alta produtividade, resistentes à doenças e tolerantes à mudanças climáticas (FLAVEL, 2017).

Considerando alguns problemas que afetam a produção e a distribuição de alimentos, tais como: o aumento crescente da população, as pestes e mudanças climáticas, verifica-se a necessidade de desenvolver estratégias inovadoras de melhoramento para acelerar a taxa de ganhos (BARABASCHI et al., 2016; BEVAN et al., 2017; XU et al., 2017). Por esse motivo, além dos investimentos em estudos essenciais para se conhecer os recursos genéticos existentes, a comunidade científica tem realizado investimentos no desenvolvimento de recursos genômicos e sistemas inteligentes para suporte de decisões que irão reduzir significativamente a lacuna entre genótipo e fenótipo e proporcionar ferramentas efetivas para desenvolver as cultivares das próximas gerações (BATLEY; EDWARDS, 2016; VARSHNEY et al., 2016).

Nos programas de melhoramento, o tipo de reprodução da espécie, assim como estudos genéticos prévios determinam o método de melhoramento. Em espécies autógamas, estes são delineados para que no final do processo a homozigose seja restaurada, produzindo apenas plantas homozigotas (BEZERRA NETO et al., 2010).

A grande dificuldade nesse processo é encontrar dois genitores que combinem todos os fenótipos de interesse em uma só planta, a alternativa seria cruzamentos múltiplos, porém, quanto maior o número de parentais envolvidos na obtenção de populações segregantes, maior é o número de ciclos de cruzamentos necessários e maior deve ser o tamanho da população (ALVES et al., 2015).

O melhoramento vegetal é baseado na união de diferentes conjuntos cromossômicos e reorganização de genes em diferentes combinações durante a formação gamética. As melhores combinações podem então ser selecionadas entre a descendência em ambientes relevantes. Os processos envolvem os constituintes de todos os cromossomos que compõem um grande número de unidades informacionais criadas e selecionadas durante a origem, evolução e domesticação (FLAVEL, 2017).

Desse modo, não é sempre possível associar os fenótipos de interesse com a intensidade desejada em uma só planta, para resolver todos os problemas de uma vez. Isso mostra que o melhoramento deve ser desenvolvido em estágios (ALVES et al., 2015). Se destacam três métodos mais utilizados no gênero *Phaseolus* para obtenção de cultivares, principalmente em *P. vulgaris* L.: o método genealógico, descendentes de uma única vagem (SPD) e a seleção recorrente (MOREIRA et al., 2010).

O mais frequentemente utilizado foi o método genealógico, também conhecido como método do pedigree. Ele foi o processo escolhido no desenvolvimento de 48% das cultivares anunciadas no Crop Breeding and Applied Biotechnology (CBAB) até o ano de 2008, sozinho ou em combinação com outros métodos. Nesse método, as plantas de populações segregantes são avaliadas individualmente e selecionadas. Quando a população é avançada pelo método genealógico, a progênie é derivada de uma planta, portanto, na maioria dos casos a quantidade de sementes disponíveis limita o uso de grandes números de parcelas, replicações e locais para avaliação. Assim, as condições experimentais no campo com um foco de uniformizar os suportes das plantas, devem ser cuidadosamente planejados (MOREIRA et al., 2010).

O método SPD também demonstrou aplicabilidade no gênero, visto que foi adotado para obter sete cultivares de diferentes populações de *P. vulgaris* L.. Para quatro dessas cultivares o método foi utilizado em associação ao método Bulk e para as outras três cultivares foi utilizado junto ao método de pedigree, as populações de segregação precoce (F_2 , F_3 e F_4) foram obtidas pelo SPD e então a progênie foi

selecionada e conduzida pelo método do pedigree para gerações mais avançadas (F₇, F₈) (MODA-CIRINO et al., 2003).

A seleção recorrente é um método originalmente desenvolvido baseado em plantas alógamas, mas demonstrou eficiência no melhoramento de autógamas, especialmente em *P. vulgaris* L. (SING et al., 1999; GARCIA et al., 2003; MENEZES-JÚNIOR et al., 2008; ARANTES et al., 2010; ALVES et al. 2015; DOS ANJOS, 2015; MELO, 2016). Consiste em repetidas seleções, geração após geração, e intercruzamento de genótipos selecionados para atingir recombinação gênica. A seleção recorrente é então um processo cíclico e contínuo, o qual envolve o desenvolvimento de indivíduos ou famílias, a avaliação, seleção e intercruzamento de genótipos superiores, com o intuito de obter uma maior frequência de alelos favoráveis e, conseqüentemente, uma melhor expressão da característica sob seleção (CARGNIN, 2007). A vantagem desse método é que a produção que uma cultivar pode atingir não é determinada por uma única planta original, mas pela combinação mais favorável dos genes existentes em um grupo de plantas originais (MOREIRA et al., 2010).

Trabalhos com cruzamentos interespecíficos já foram realizados no gênero *Phaseolus*, a maioria sem sucesso. Por exemplo, cruzamentos entre *P. vulgaris* e *P. coccineus* para obter resistência, no entanto, o pareamento cromossômico não é perfeito e poucas variedades comerciais foram obtidas, o cruzamento se mostrou ainda mais difícil com *P. polyanthus* (BROUGHTON, 2003). Cruzamentos entre *P. lunatus* e *P. vulgaris* não têm gerado híbridos férteis (ALMEIDA, 2006) mesmo sendo descrito um experimento onde o retrocruzamento com o parental *P. vulgaris* obteve mais sucesso com presença de indivíduos férteis na prole (YARNELL, 1965).

Cruzamentos intraespecíficos em *P. lunatus* não são fáceis de serem realizados, mesmo se tratando de uma espécie de fecundação mista, com predominância de autogamia (PENHA et al., 2017), visto que se torna necessário fazer a emasculação das flores para se realizar a fecundação cruzada artificial, não havendo relatos de cultivares melhoradas no Brasil. Normalmente são utilizadas as variedades crioulas no cultivo, que apesar dos genótipos manterem muitas características indesejáveis, incluindo susceptibilidade a pragas e doenças, crescimento indeterminado, longo ciclo de vida, alto conteúdo de ácido cianídrico, entre outros, eles também têm boa adaptação local e alta variabilidade genética para

a maioria das características agronômicas (SANTOS et al., 2002, BERTOLDO et. al, 2014, CARMO, 2015, SILVA, 2015).

2.3 Caracterização citogenética

A citogenética é a ciência que estuda todo e qualquer comportamento relativo a cromossomos isolados ou em conjunto, condensados ou distendidos, no que diz respeito a sua morfologia, organização, função e replicação; bem como na sua variação e evolução durante a transmissão generativa (meiose) ou somática (mitose) (GUERRA, 1988).

Estudos citogenéticos com o gênero *Phaseolus* demonstraram alta semelhança cariotípica, apresentando $2n=22$ cromossomos com predominância de metacêntricos e submetacêntricos, com distribuição da heterocromatina constitutiva corada na região pericentromérica (ALMEIDA, 2006). Apresenta cromossomos pequenos, por volta de 2 μm (FONSECA et al., 2010) variando entre 1,7 e 2,4 μm (FONSECA et al., 2016). O primeiro relato do número cromossômico em *Phaseolus* é de 1925, quando Karpetschenko (revisado por MERCADO-RUARO e DELGADO-SALINAS, 2000) obteve $2n = 22$ para *P. acutifolius* A. Gray, *P. coccineus* L., *P. lunatus* L. and *P. vulgaris* L.

Para *P. lunatus*, os cromossomos do seu cariótipo são predominantemente metacêntricos, nove metacêntricos e dois submetacêntricos, com constrição primária claramente visível (ALMEIDA, 2006), têm a região pericentromérica rica em heterocromatina-CMA+ formando blocos de diferentes tamanhos e intensidades, bandas terminais observadas em um par, denominadas subtelméricas (MOSCONI et al. 1999 e FONSECA et al. 2010), correspondendo à região organizadora de nucléolo (NOR) (BONIFÁCIO et al., 2012)

A heterocromatina em *Phaseolus* é rica em nucleotídeos GC (SOUZA; BENKO-ISEPPON, 2004; ALMEIDA, 2006; FONSECA et al. 2010; SILVA et al., 2010), sendo assim, pode ser localizada pela dupla coloração com Cromomicina A3 (CMA, regiões ricas em GC) e 4'6-diamidino-2-phenilindol (DAPI, regiões ricas em AT). Assim, essa análise com uso de fluorocromos é mais rápida e as bandas são mais contrastadas, tornando a técnica mais adequada ao estudo de características da heterocromatina na espécie, além da acessibilidade da técnica (ALMEIDA, 2006).

Utilizando os fluorocromos CMA/DAPI, Almeida (2006), identificou três pares diferenciáveis a partir da heterocromatina: par 7, tamanho médio, com um grande

bloco de CMA, maior no braço longo que no braço curto; par 3, grande, uma pequena banda no centrômero, submetacêntrico; par 6, com a Região Organizadora do Nucléolo (RON), grande banda de CMA na região terminal.

Além do uso de fluorocromos, estudos sobre a heterocromatina em *P. lunatus* também já foram realizados utilizando a técnica de BAC-FISH (BONIFÁCIO, 2012; ALMEIDA; PEDROSA-HARAND, 2013), sendo observado o padrão heterocromático pericentromérico, diferenciando o padrão apenas na banda terminal que foi descrita no cromossomo 6 por Bonifácio (2012), e no braço curto do cromossomo 7 por Almeida e Pedrosa-Harand (2013).

Diferenças entre caracterizações de genótipos de *P. lunatus* são comuns, havendo evidências de amplificação diferencial do DNA repetitivo (ALMEIDA, 2006), reposicionamento centromérico em relação a *P. vulgaris*, inversões e conservada sintenia entre *P. vulgaris* e *P. lunatus* (BONIFÁCIO, 2012). Por outro lado, Almeida e Pedrosa-Harand (2013) não observaram nenhum indício de rearranjos cromossômicos, de certo que não se sabe como ocorreu a evolução cromossômica da espécie.

Estudos citogenéticos na espécie não são apenas importantes para caracterização taxonômica e análises evolutivas, mas também para programas de melhoramento. Pela análise do cariótipo de *P. lunatus* é possível realizar a confirmação do número cromossômico e estudar o comportamento destes, além de se avaliar a fertilidade dos grãos de pólen, a formação do complexo sinaptonêmico, quiasmas e formação dos gametas haploides, auxiliando na identificação e escolha de genótipos para serem utilizados em cruzamentos dirigidos (SINGH, 2017; LAVINSCKY et al., 2017).

Por meio da meiose é possível estudar o processo de recombinação e segregação que tem grande importância para a variabilidade, realizar seleção de combinações entre diferentes genótipos para maior estabilidade meiótica, diminuindo anomalias em gerações futuras e obtendo cruzamentos com maior capacidade de recombinação entre os cromossomos (SHARMA, et al., 2003; SOARES-SCOTT, 1998; ALMEIDA, 2003).

Além disso, conhecer os valores de heterocromatina e padrões de distribuição se tornam importantes principalmente para estudo de parentais e híbridos, por dois motivos principais: 1 aspectos morfoagronômicos podem ser afetados pela quantidade de heterocromatina (PICKERSGILL; HEISER-JR, 1976; KALTSIKES, 1980;

BENNETT, 1981; PILCH, 1981; BENNETT; GUSTAFSON, 1982; CHUNHONG et al., 1997; FERREE; BARBASH, 2009); 2 em estudos citogenéticos anteriores foi constatado que a heterocromatina nos híbridos corresponde à média das visualizadas nos genitores (BENNETT, 1981; PELLICCIARI et al., 1988; STOINOVA, 2006).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Seleção dos acessos

Foram selecionados 24 acessos de feijão-fava provenientes do Banco Ativo de Germoplasma de *Phaseolus* da Universidade Federal do Piauí (BGP-UFPI). O critério de seleção dos acessos foi baseado em trabalhos anteriores de caracterização morfoagronômica, nos quais foram identificados acessos que mostraram desempenho superior em relação aos demais quanto às características agronomicamente desejáveis, independentemente do local de origem do acesso.

Os acessos de feijão-fava com características agronômicas superiores, selecionados do Banco Ativo de Germoplasma de *Phaseolus* da UFPI demonstraram distribuição geográfica variada, independentemente do local de origem e característica, conforme Tabela 1, sendo a maioria originários do estado de Minas Gerais, 62,5% dos acessos utilizados, relatados em 50% dos trabalhos de caracterização considerados nesse estudo.

Com auxílio do programa Qgis pode-se observar a distribuição geográfica das procedências dos 24 acessos de feijão-fava selecionados (Figura 1), advindos de três regiões diferentes: Nordeste, Centro-Oeste e Sudeste, de seis estados: Piauí (dois acessos), Ceará (dois acessos), Paraíba (dois acessos), Goiás (dois acessos), Minas Gerais (quinze acessos) e Espírito Santo (um acesso).

Dentre os acessos selecionados, foram encontradas oito características agronomicamente desejáveis: crescimento determinado (para coleta mecanizada), precocidade, alto número de vagens por planta, alto número de sementes por vagem, alta produtividade, grande volume da semente (para produção de pastas alimentares), resistência à antracnose e resistência à *Macrophomina*. Sendo selecionados um acesso para crescimento determinado, um para alta produtividade, dois com grande volume da semente, dois com elevado número de vagens por planta, três com resistência ao fungo *C. truncatum* causador da antracnose, três com resistência ao fungo *M. phaseolina* causador da podridão de carvão, seis com poucos dias para floração e onze acessos com alto número de sementes por vagem.

Nos dados morfoagronômicos (Anexo A), observa-se as variações para os caracteres quantitativos entre os acessos, em que o acesso UFPI 968 apresenta o menor número de dias para floração (39,5 dias) enquanto o UFPI 1183 apresenta o maior número de dias para floração (117,5 dias). Esses dados são importantes para

se prever as médias dos híbridos em um programa de melhoramento, levando em consideração a natureza do controle genético do caráter.

Tabela 1 – Identificação dos 24 acessos de feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.) do Banco Ativo de Germoplasma de *Phaseolus*, com características superiores utilizadas como critério de seleção: crescimento determinado (CD), precocidade para floração (NDF), alto número de vagens por planta (ANVP), alto número de sementes por vagem (ANSV), grande volume da semente (GVS), alta produtividade por planta (APRODP), resistência à antracnose (RA), resistência à *Macrophomina* (RM), locais de origem e referência da caracterização.

Acesso	Característica	Origem	Referência
UFPI 220	ANVP e RA	Ipameri - GO	Silva (2011b); Silva et al. (2015) e Brito (2017)
UFPI 222	ANSV	Ipameri - GO	Silva (2011b); Silva et al. (2015)
UFPI 228	ANSV	Porto Firme - MG	Silva (2011b); Silva et al. (2015)
UFPI 229	ANSV e NDF	Rio Casca - MG	Pires (2014)
UFPI 243	ANVP	Rio Casca - MG	Silva (2011b); Silva et al. (2015)
UFPI 251	RA	Cáceres - MG	Cavalcante (2011); Cavalcante et al. (2012)
UFPI 674	APRODP	Lagoa das Pedras - PI	Assunção-Filho (2012); Assunção-Filho et al. (2013)
UFPI 728	CD	Paraíba	Carmo (2011); Carmo et al. (2015)
UFPI 832	RA	Montadas - PB	Brito (2017)
UFPI 892	RM	São Gonçalo - PI	Munguía (2017)
UFPI 905	RM	Pedra Branca – CE	Munguía (2017)
UFPI 908	RM	Pedra Branca – CE	Munguía (2017)
UFPI 968	NDF	Colatina - ES	Silva (2011a); Silva et al. (2017)
UFPI 1176	ANSV	Porteirinha – MG	Silva (2011a); Silva et al. (2017)
UFPI 1183	GVS	Bocaiúva – MG	Silva (2011a); Silva et al. (2017)
UFPI 1186	GVS	Bocaiúva – MG	Silva (2011a); Silva et al. (2017)
UFPI 1188	ANSV	Bocaiúva – MG	Silva (2011a); Silva et al. (2017)
UFPI 1189	ANSV	Bocaiúva – MG	Silva (2011a); Silva et al. (2017)
UFPI 1200	ANSV	Salinas – MG	Silva (2011a); Silva et al. (2017)
UFPI 1205	ANSV e NDF	Rio Pardo de Minas – MG	Silva (2011a); Silva et al. (2017)
UFPI 1206	NDF	Rio Pardo de Minas – MG	Silva (2011a); Silva et al. (2017)
UFPI 1209	ANSV	Francisco Sá – MG	Silva (2011a); Silva et al. (2017)
UFPI 1213	ANSV	Rio Pardo de Minas – MG	Silva (2011a); Silva et al. (2017)
UFPI 1214	ANSV	Bocaiúva - MG	Silva (2011a); Silva et al. (2017)

Fontes: Banco Ativo de Germoplasma de *Phaseolus* (BGP-UFPI), Banco de Dissertações do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento da UFPI e Banco de Dissertações do Programa de Pós-Graduação em Agronomia da UFPI.

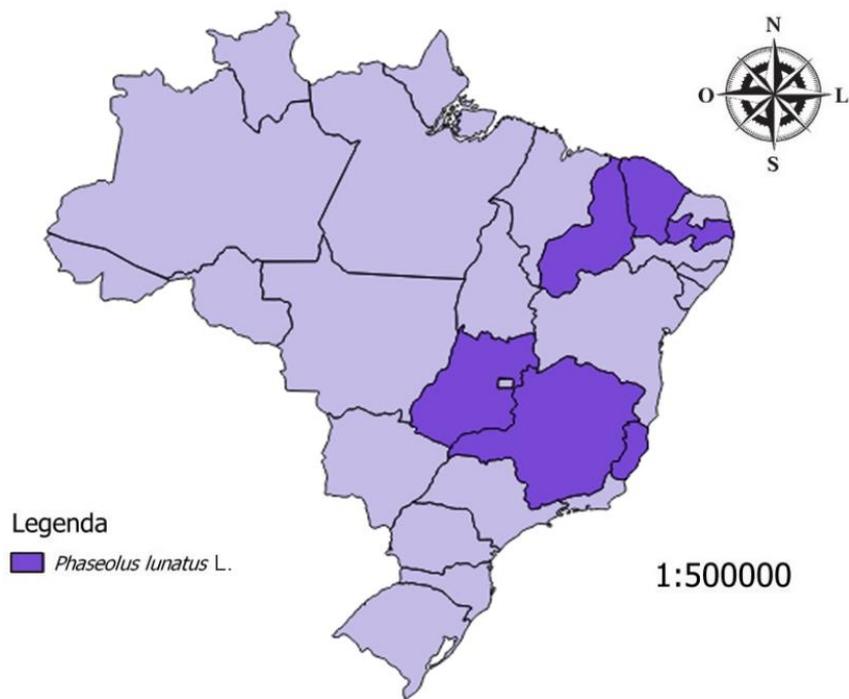


Figura 1 – Distribuição geográfica dos 24 acessos de feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.) com características agrônômicas superiores, provenientes do Banco Ativo de Germoplasma de *Phaseolus*, Teresina, 2018.

As características morfológicas das sementes dos acessos selecionados podem ser observadas na Figura 2, tais como: tamanho, coloração, brilho e formato.

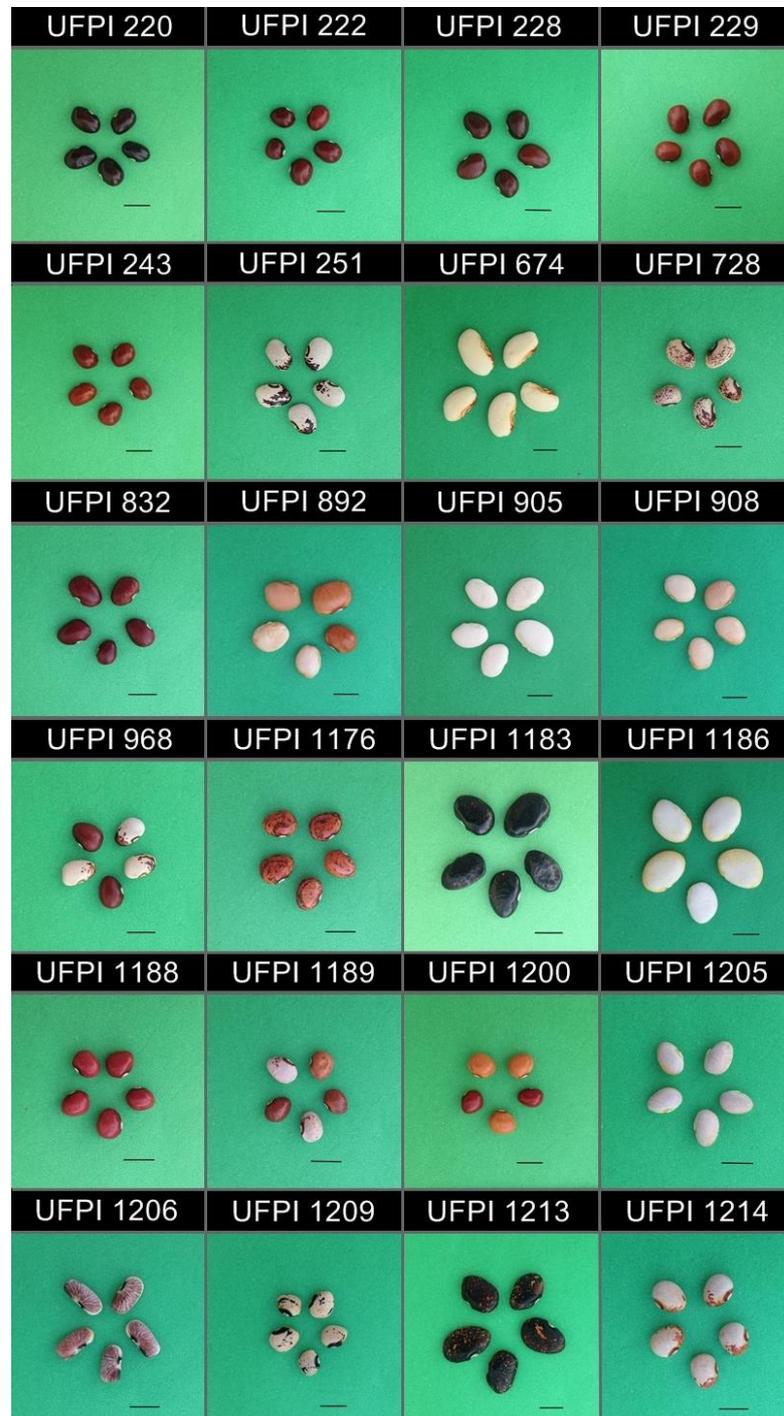


Figura 2 – Acessos de feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.) com características agrônômicas superiores, provenientes do Banco Ativo de Germoplasma de *Phaseolus*. Barra = 1cm, Teresina, 2018.

3.2 Caracterização citogenética

A produção do material de análise (germinação, coleta das raízes, pré-tratamento, fixação e confecção de lâminas) foi realizada no Laboratório de Recursos Genéticos Vegetais (LGRV) da Universidade Federal do Piauí (UFPI) e no Laboratório de Genética e Biotecnologia Vegetal (LGBV) da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). As análises e fotodocumentação aconteceram no Laboratório de Recursos Genéticos Vegetais da UFPI e no Laboratório de Citogenética e Evolução Vegetal da UFPE.

3.2.1 Obtenção das raízes, pré-tratamento e fixação

Para a germinação das sementes, foi utilizado um tratamento de limpeza, a fim de minimizar a perda de sementes por ação fúngica desenvolvido em cinco etapas: lavagem mecânica das sementes com o uso de sabão líquido como produto tensoativo, lavagem em água destilada para retirada do produto, imersão em hipoclorito de sódio por 15 segundos, lavagem em água destilada por 15 segundos, imersão em antifúngico com secagem de 7 horas.

Após o processo de limpeza, as sementes foram colocadas em placas de Petri com algodão umedecido coberto por papel filtro, com exposição a luz por 24h à temperatura de 25° C, até o surgimento e coleta do hipocótilo. O tamanho ideal de coleta das raízes foi de 1 centímetro. A coleta das raízes de cada acesso ocorreu às 17 horas e em seguida foram pré-tratadas com 8-hidroxiquinoleína (0,002 M) por 18 horas à temperatura de 10°C. Foram fixadas em Carnoy (solução de etanol e ácido acético na proporção de 3:1) por 24 horas, e então estocadas em freezer a -20°C (GUERRA, 1988).

3.2.2 Bandeamento com fluorocromos CMA e DAPI

A técnica de bandeamento com uso dos fluorocromos Cromomicina A3 (CMA3) e 4'-6'-diamidino-2-fenilindol (DAPI) foi realizada segundo o protocolo de Schweizer e Ambros (1994). Foi produzida uma média de 5 lâminas por acesso, preparadas com as enzimas celulase 2% (Onozuka R-10) e pectinase 20% (Sigma), envelhecidas por três dias à temperatura ambiente. Em seguida, as lâminas foram coradas com 10µL de DAPI para serem analisadas em microscópio de epifluorescência, a fim de realizar a pré-seleção das lâminas para garantir a qualidade dos resultados, sendo escolhidas no mínimo três lâminas de cada acesso. As lâminas

selecionadas foram descoradas e colocadas em novo processo de envelhecimento de 3 dias para então se fazer a coloração definitiva. As lâminas foram coradas com 10 µL de CMA (0,5 mg/ml) e mantidas em câmara úmida em ausência de luz por uma hora. Foram então lavadas com água destilada e secas com uso de bomba de ar. Posteriormente, foram expostas à 10 µL do corante DAPI (2 µg/ml) por 30 minutos, lavadas, secas e montadas em tampão McIlvaine- glicerol (1:1 v/v).

3.2.3 Fotodocumentação, morfometria dos cromossomos e dos blocos de CMA

Os resultados foram fotografados utilizando-se câmera digital Leica DFC345Fx acoplado em microscópio de epifluorescência Leica DM2500. As imagens não passaram por ajuste fotográfico de brilho ou contraste para as medições, para evitar distorções ou alteração na extensão do sinal. Para a morfometria foram utilizadas imagens de cinco metáfases provenientes da sobreposição do bandeamento CMA/DAPI para cada acesso. O tamanho dos cromossomos e dos blocos heterocromáticos marcados por CMA+ (excluindo regiões distendidas) foram determinados por meio do programa Micromasure 3.3, complementado pelo Microsoft Excel 2016, quando o tamanho dos blocos foi comparado ao tamanho total do conjunto cromossômico, conforme o método de Fonsêca et al. (2010). Com os cariótipos mensurados foi possível determinar os valores do comprimento total cromossômico (CTC) e sua média (CMC); do comprimento total do lote haploide de cromatina (CTLH); comprimento do braço longo (BL), curto (BC) e da razão entre os braços longo e curto (r) de cada par cromossômico. Os idiogramas foram desenhados no programa Corel DRAW 2017.

3.3 Ordenação dos cruzamentos propostos

Para a projeção de cruzamentos entre os acessos, buscou-se a estabilidade heterocromática dos híbridos, a fim de se evitar variações na fertilidade, adaptabilidade e produtividade proveniente dos genitores. O processo de ordenação seguiu três fases utilizando-se o valor das medidas de heterocromatina constitutiva obtida dos acessos superiores e o tipo de caráter agrônômico desejável. Na primeira fase, os acessos com seus valores de heterocromatina foram sistematizados em tabela de acordo com as características: hábito de crescimento (HaC), número de dias para floração (NDF), número de vagens por planta (NVP), número de sementes por vagem (NSV), produtividade (PROD), resistência à antracnose (RA) e resistência à

Macrophomina (RM). A segunda fase foi a etapa de seleção dos acessos com similaridade heterocromática, quando para cada característica foram selecionados os acessos com os valores mais próximos da média, com o máximo de variação de 1% para mais ou para menos. Na terceira fase foram organizados os pares de cruzamentos do primeiro ciclo, de acordo com o critério de combinação de características: 1-Desenvolvimento (CD x NDF), 2-Produtividade (NVP [incluindo PROD] x NSV) e 3-Resistência (RA x RM). A escolha do método de cruzamentos e seleção propostos, foi realizada de acordo com o modo de reprodução da espécie, os relatos de programas de melhoramento para o gênero *Phaseolus* e o número de características e genótipos envolvidos no objetivo de melhoramento.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise das metáfases dos acessos na dupla coloração por CMA/DAPI levam à confirmação do número cromossômico de $2n=22$ em todos os conjuntos (Figura 3 e 4). Encontrou-se no mínimo um par de cromossomos com constrição secundária, o que foi anteriormente descrito por Fonseca et al. (2010), utilizando sondas específicas, e determinou como o par cromossômico 6, em que estaria localizada a Região Organizadora de Nucléolo (RON).

A heterocromatina pericentromérica detectada nesse estudo foi similar à observada em estudos anteriores, de Bonifácio et al. (2012) e Almeida e Pedrosa-Harand (2013) (Figura 5), os quais utilizaram BAC-FISH. Porém, foi encontrada variação no padrão de heterocromatina nos diferentes acessos, não exibindo um padrão preferencial nas outras regiões cromossômicas além da pericentromérica, com exceção do cromossomo 6, que aparenta ter um padrão subtelomérico bem definido.

Tal variação na heterocromatina pode ser explicada pela amplificação diferencial do DNA repetitivo, que foi apontada como o principal mecanismo de evolução perceptível em feijão-fava (ALMEIDA, 2006). Assim, dando possibilidade a variações na heterocromatina constitutiva de diferentes genótipos, como melhor observado nos idiogramas.

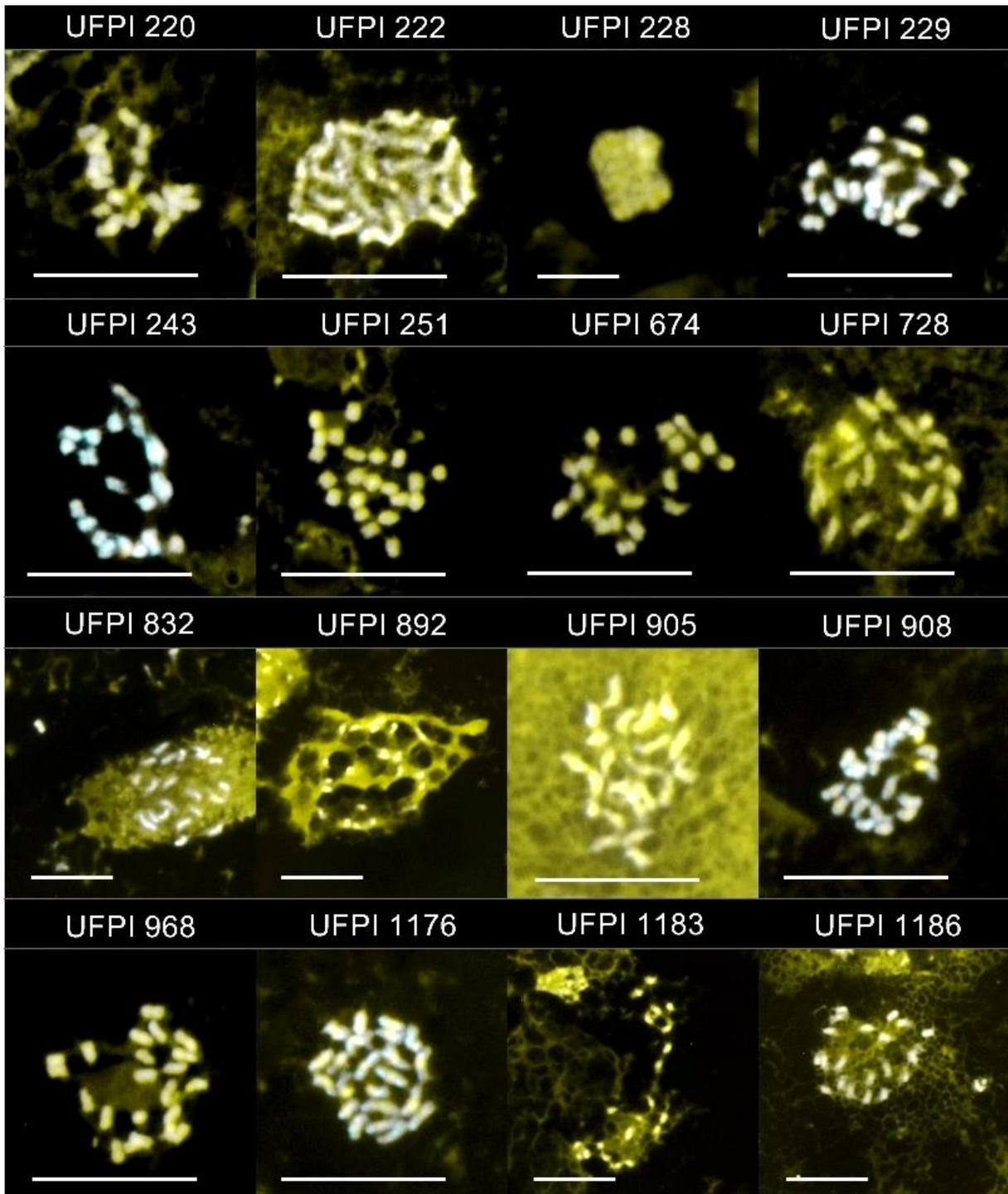


Figura 3 – Dupla coloração com CMA/DAPI em dezesseis acessos de feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.) com características agrônômicas superiores. Setas indicam blocos de CMA marcando os blocos de heterocromatina principalmente na região pericentroméricas dos cromossomos. Cabeças de seta indicam pequenos blocos de CMA que podem estar associados com regiões organizadoras de nucléolo (RONs). Barra = 10 μ m.

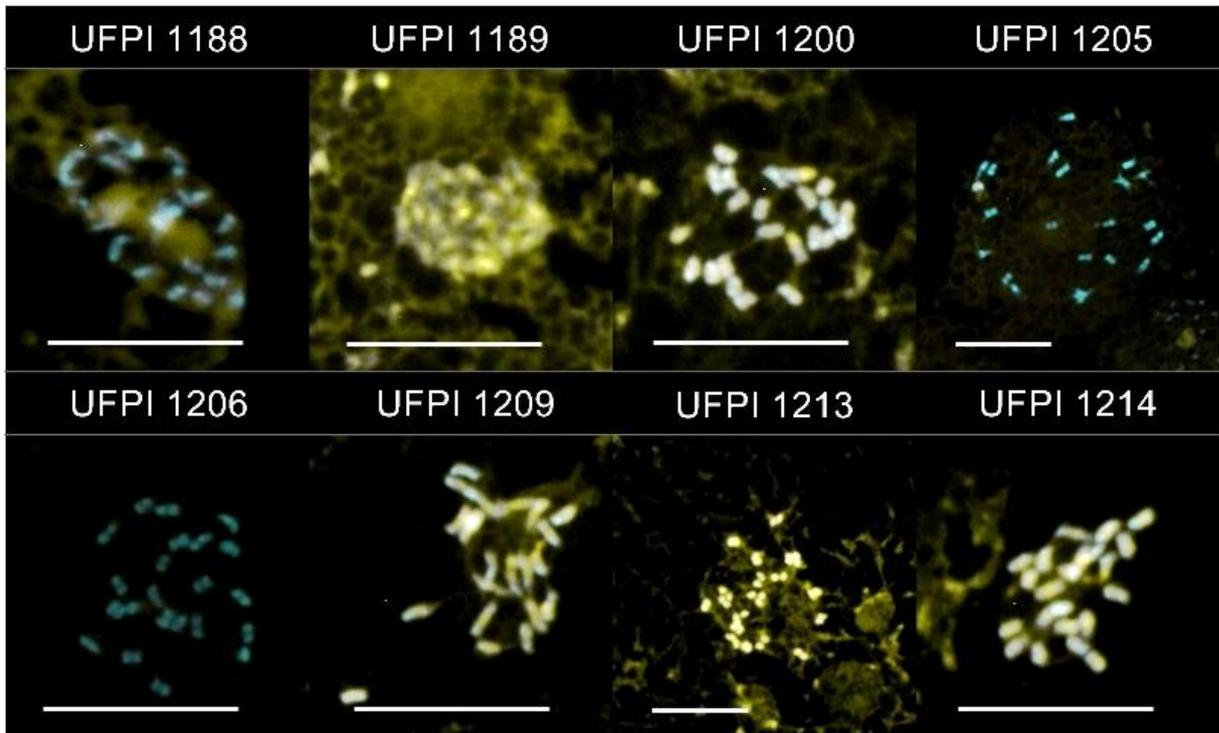


Figura 4 – Dupla coloração com CMA/DAPI em oito acessos de feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.) com características agronômicas superiores. Setas indicam blocos de CMA marcando os blocos de heterocromatina principalmente na região pericentroméricas dos cromossomos. Cabeças de seta indicam pequenos blocos de CMA que podem estar associados com regiões organizadoras de nucléolo (RONs). Barra = 10 μ m.

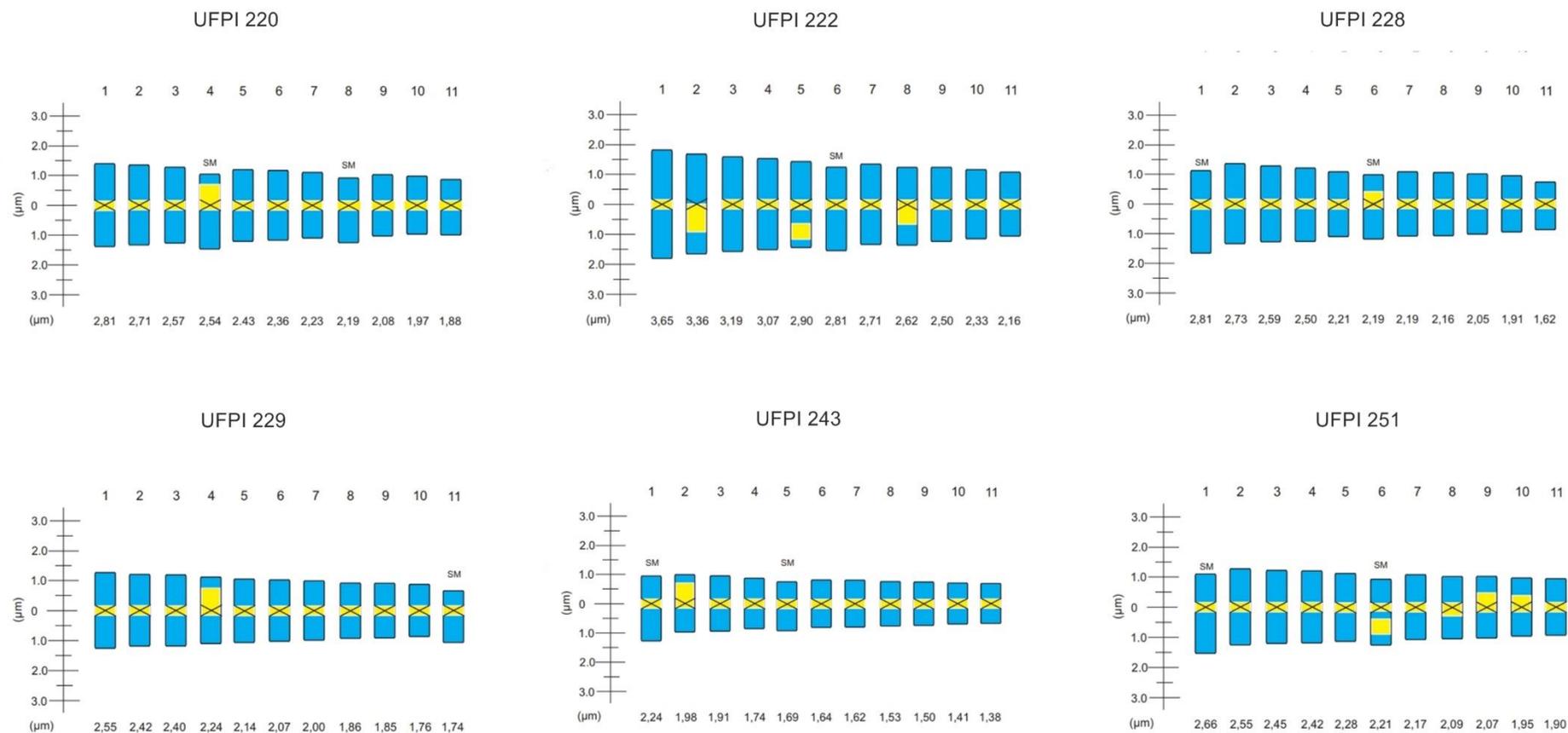


Figura 5 – Idiogramas de 24 acessos superiores de feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.) do Banco Ativo de Germoplasma de *Phaseolus* da Universidade Federal do Piauí. SM=Cromossomo submetacêntrico.

Continua...

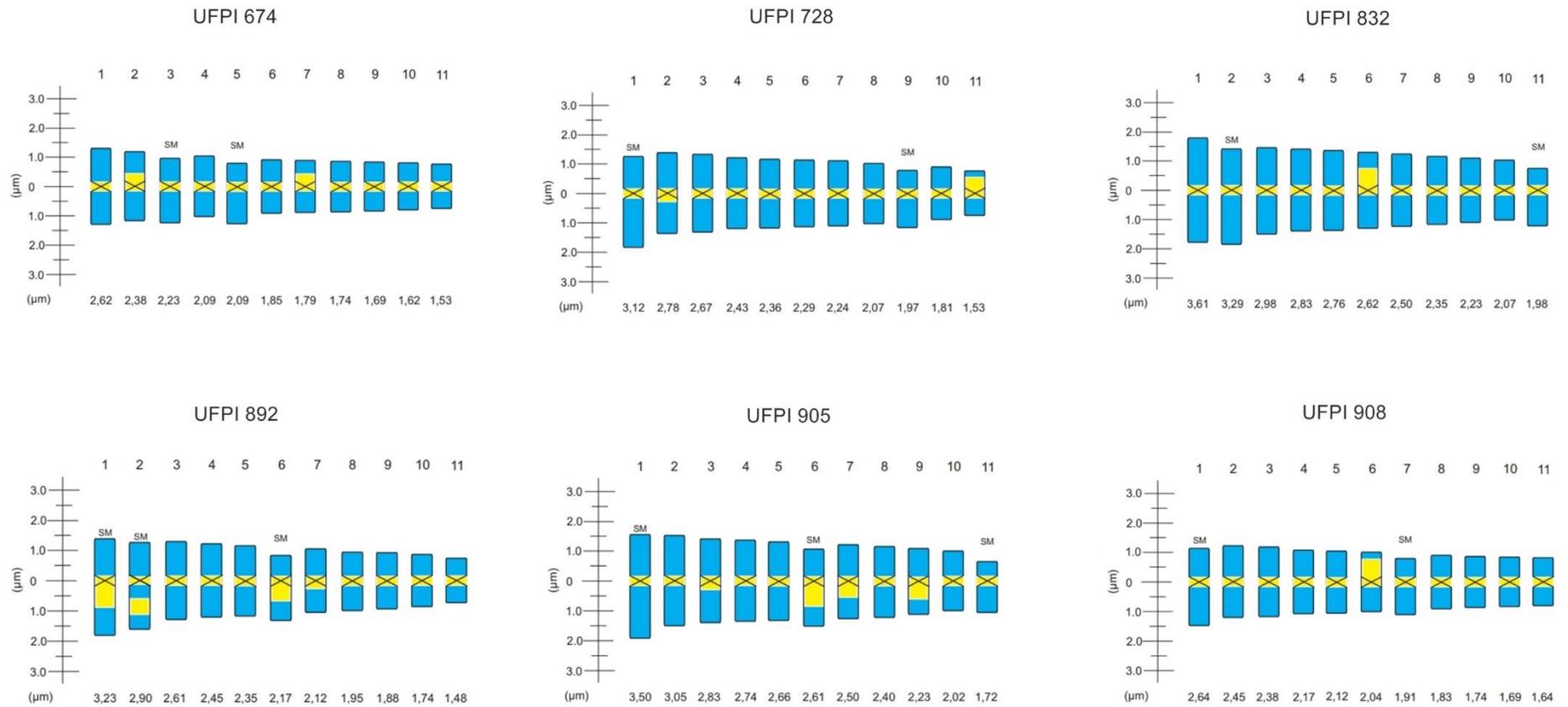


Figura 5 – Idiogramas de 24 acessos superiores de feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.) do Banco Ativo de Germoplasma de *Phaseolus* da Universidade Federal do Piauí. SM=Cromossomo submetacêntrico.

Continuação

Continua...

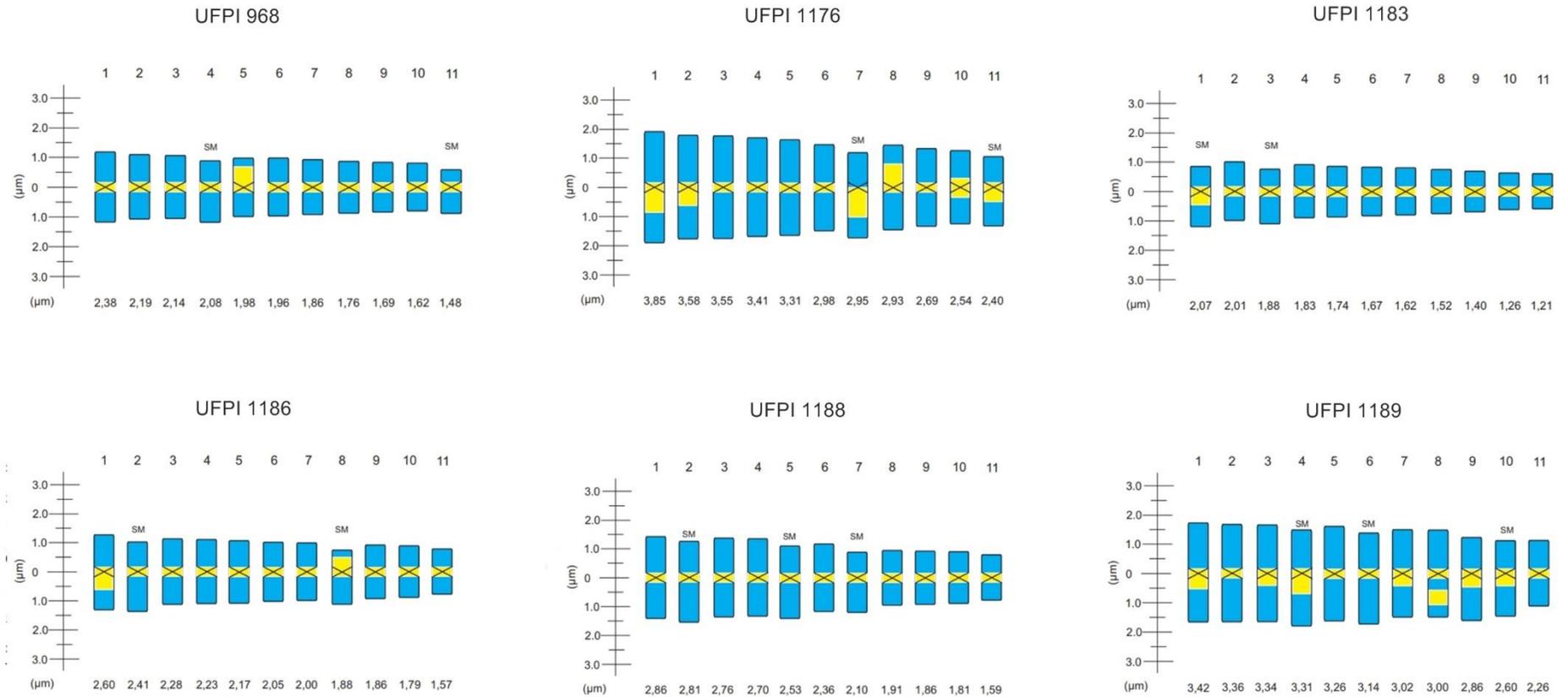


Figura 5 – Idiogramas de 24 acessos superiores de feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.) do Banco Ativo de Germoplasma de *Phaseolus* da Universidade Federal do Piauí. SM=Cromossomo submetacêntrico.

Continuação

Continua...

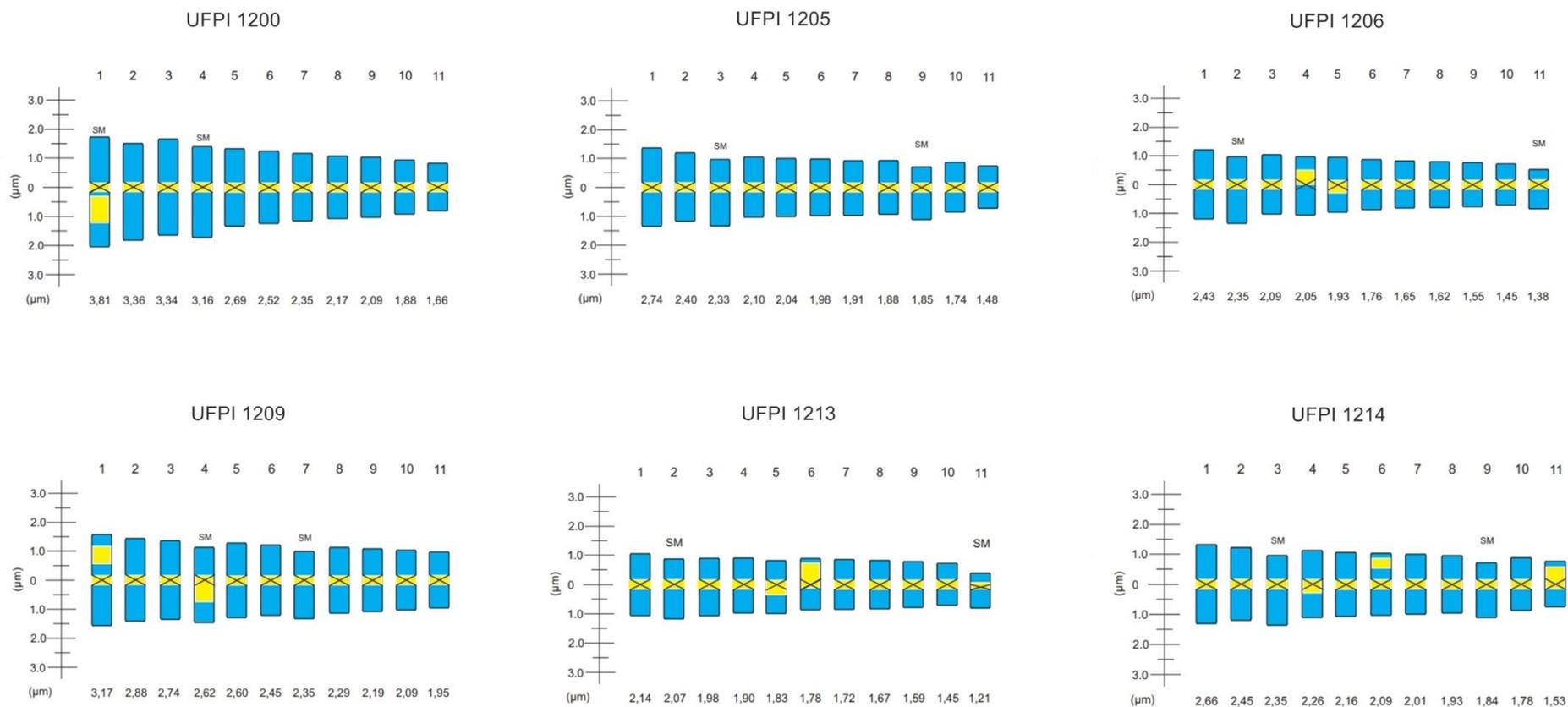


Figura 5 – Idiogramas de 24 acessos superiores de feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.) do Banco Ativo de Germoplasma de *Phaseolus* da Universidade Federal do Piauí. SM=Cromossomo submetacêntrico. Continuação

Os cromossomos dos acessos apresentaram tamanho cromossômico em média pequeno, conforme descrito anteriormente (MERCADO-RUARO; DELGADO-SALINAS, 1996, 1998; FONSÊCA et al. 2016), variando de 1,65 μm (UFPI 1183) a 3,1 μm (UFPI 1176) (Tabela 2) , desvio padrão de 0,3977 μm , sendo o menor par dentro dos conjuntos do tamanho cromossômico de 1,21 μm (UFPI 1183 e UFPI 1213) e o maior par mensurado dentro dos conjuntos de 3,81 μm (UFPI 1200), determinando um intervalo de tamanho cromossômico (ITC) de 1,21 μm – 3,81 μm , média de 1,68 μm – 2,9 μm .

Os conjuntos cromossômicos são basicamente formados por cromossomos metacêntricos e submetacêntricos, com um mínimo de oito metacêntricos e máximo de dez, mínimo de um submetacêntrico e máximo de três. Havendo quatro acessos com a fórmula cariotípica “8 M + 3 SM”, dezenove acessos “9 M + 2 SM” e dois acessos “10 M + 1 SM”. O valor médio da fórmula cariotípica encontrado foi “9 M + 2 SM”, corroborando com os dados descritos por Almeida (2006).

Segundo Sybenga (1992), pequenos genomas, como é o caso de *P. lunatus*, têm proporcionalmente pequenas porções de heterocromatina, cujos valores variaram de 21,1% (UFPI 1188) a 38,77% (UFPI 1183), com desvio padrão de 3,53%, sendo a média de heterocromatina encontrada de 28,81%.

Tabela 2 – Caracterização citogenética dos 24 acessos de feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.) com características agrônômicas superiores. Número cromossômico diploide, tamanho médio dos cromossomos do conjunto, intervalo do tamanho cromossômico (ITC), fórmula cariotípica (FC, onde M = metacêntricos e SM = submetacêntricos) e porcentagem de heterocromatina no conjunto.

Acesso	2n	Média do conjunto	ITC (µm)	FC	Heterocromatina
UFPI 220	22	2,34 µm	1,88-2,81	9 M + 2 SM	28,64 %
UFPI 222	22	2,84 µm	2,16-3,65	10 M + 1 SM	28,41 %
UFPI 228	22	2,27 µm	1,62-2,81	9 M + 2 SM	28,71 %
UFPI 229	22	2,09 µm	1,74-2,55	10 M + 1 SM	27,09 %
UFPI 243	22	1,69 µm	1,38-2,24	9 M + 2 SM	23,80 %
UFPI 251	22	2,25 µm	1,9-2,66	9 M + 2 SM	23,15 %
UFPI 674	22	1,97 µm	1,53-2,62	9 M + 2 SM	26,59 %
UFPI 728	22	2,3 µm	1,53-3,12	9 M + 2 SM	28,13 %
UFPI 832	22	2,66 µm	1,98-3,61	9 M + 2 SM	30,16 %
UFPI 892	22	2,26 µm	1,48-3,23	8 M + 3 SM	33,14 %
UFPI 905	22	2,57 µm	1,72-3,5	8 M + 3 SM	27,25 %
UFPI 908	22	2,05 µm	1,64-2,64	9 M + 2 SM	31,32 %
UFPI 968	22	1,92 µm	1,48-2,38	9 M + 2 SM	28,75 %
UFPI 1176	22	3,11 µm	2,4-3,85	9 M + 2 SM	29,54 %
UFPI 1183	22	1,65 µm	1,21-2,07	9 M + 2 SM	38,77 %
UFPI 1186	22	2,08 µm	1,57-2,6	9 M + 2 SM	29,89 %
UFPI 1188	22	2,3 µm	1,59-2,86	8 M + 3 SM	21,10 %
UFPI 1189	22	3,05 µm	2,26-3,42	8 M + 3 SM	27,11 %
UFPI 1200	22	2,64 µm	1,66-3,81	9 M + 2 SM	31,01 %
UFPI 1205	22	2,04 µm	1,48-2,74	9 M + 2 SM	26,76 %
UFPI 1206	22	1,84 µm	1,38-2,43	9 M + 2 SM	32,57 %
UFPI 1209	22	2,48 µm	1,95-3,17	9 M + 2 SM	30,26 %
UFPI 1213	22	1,76 µm	1,21-2,14	9 M + 2 SM	28,68 %
UFPI 1214	22	2,09 µm	1,53-2,66	9 M + 2 SM	30,53 %
Média	22	2,26 µm	1,68-2,9	9 M + 2 SM	28,81 %

Guerra (2000), afirma que o significado funcional e evolutivo da heterocromatina pode não ser o mesmo para todas as espécies, e um só padrão de distribuição para todas as angiospermas pode não existir, apenas tendências ou padrões preferenciais para diferentes genomas. Assim, é perceptível que há uma estruturação cromossômica característica em *P. lunatus* L., mas há diferenças na proporção de heterocromatina em relação ao genoma total mensurada nos diferentes acessos.

Patankar e Ranjekar (1984) realizando mensurações da heterocromatina em cinco espécies do gênero *Phaseolus* demonstraram que, *P. vulgaris* L. tem 1,26x mais heterocromatina que *P. lunatus* L., o equivalente a 38% do genoma total, valor encontrado na mensuração do acesso UFPI 1183, porém, distante da média geral (28,81%). Essa diferença pode ser devida à metodologia utilizada, visto que os autores realizaram suas análises em núcleos interfásicos.

Uma possível explicação para a alta taxa de heterocromatina em acessos do grupo 3, como UFPI 1183 (38,77%) e UFPI 892 (33,14%), seria a correlação evolutiva entre *P. lunatus* L. e *P. acutifolius*, *P. latifolius* e *P. vulgaris* L., visto que essas três últimas são as espécies com maior porção de heterocromatina no gênero *Phaseolus* (MOSCONE et al., 1999), contribuindo assim para o aumento de heterocromatina no genoma de *P. lunatus* L.

Outra possibilidade, seria a própria amplificação do DNA repetitivo, a qual foi apontada por Almeida (2006) como principal mecanismo de evolução na espécie. O aumento da heterocromatina já foi relatado em *Vigna unguiculata* como fator perceptível no curso da evolução (IKEDA, 1988), o que reforça essa hipótese. Como evidências de que a quantidade de heterocromatina facilita rearranjos cromossômicos, ajudando na reestruturação de cariótipos e assim, na especiação (SHAMURAILATPAM et al., 2015), trazendo importância para a observação do comportamento citogenético dos híbridos provenientes dos cruzamentos com esses acessos do grupo 3, e acompanhamento desses cariótipos com o decorrer das gerações em seleção.

O valor de heterocromatina para *P. lunatus* (28,81%) se configura como mediano, quando comparado com mensurações de outras espécies, não se sabendo as implicações disso no organismo vegetal. Mendes et al. (2011) estabeleceu a porcentagem de heterocromatina em *citrus* igual a 18,4%; Fonsêca et al. (2010) e Schlueter et al. (2008) encontraram aproximadamente 49% de heterocromatina para

P. vulgaris.; Kim et al. (2005) descreveu o valor de 50% para o sorgo; Vottelerd (2009) descreveu os valores de heterocromatina para sete espécies de Aloaceae, *Aloe vera* (4,23%), *A. saponaria* (0,85%), *A. littoralis* (6,21%), *A. jucunda* (4,48%), *A. zebrina* (5,30%), *A. lutezens* (6,49%), *A. jacksonii* (5,73%); Chengmu (1994) descreveu a heterocromatina da cana de açúcar determinando o valor de 51% do genoma total.

Além do conhecimento de recursos genéticos, tais valores de heterocromatina e padrões de distribuição se tornam importantes quando aplicados ao melhoramento genético, visto que a heterocromatina, nos híbridos, corresponde à média das visualizadas nos genitores (BENNETT, 1981; PELLICCIARI et al., 1988; STOINOVA, 2006). Tais mudanças nos padrões podem afetar diversos aspectos de importância no híbrido.

Os aspectos que podem ser influenciados pela mudança na quantidade de heterocromatina da geração F₁ são: a reprodução, pois, a heterocromatina pode desempenhar um papel no isolamento reprodutivo (FERREE; BARBASH, 2009); fertilidade, visto que mudanças na estrutura cromossômica podem trazer níveis de esterilidade e perda de heterocromatina pode reduzir a fertilidade dos híbridos (PICKERSGILL; HEISER-JR, 1976; BENNETT; GUSTAFSON, 1982); produtividade, podendo haver diminuição ou aumento na produtividade com alterações na heterocromatina (BENNETT, 1981; BENNETT; GUSTAFSON, 1982); adaptabilidade, os indivíduos com mais heterocromatina podem apresentar maior adaptação dos híbridos (PILCH, 1981); estabilidade e aumento na frequência de quiasmas (CHUNHONG et al., 1997; KALTSIKES, 1980).

Com base nestas informações, se torna viável o desenvolvimento de híbridos que não variem na proporção de heterocromatina, a fim de evitar mudanças no desempenho das cultivares, pois, tratando-se de genitores superiores, é esperado que o comportamento superior do genitor seja refletido no fenótipo dos híbridos, ou seja, para evitar mudanças no fenótipo (mesmo que favoráveis) devem ser escolhidos parentais com proporções similares de heterocromatina.

Levando-se em consideração a média geral, 28,81%, foram selecionados os acessos com menor variação na heterocromatina em relação à média, no mínimo um acesso por característica favorável, estabelecendo uma tolerância de variação de até 1% para acessos diferentes que exibem a mesma característica favorável, sendo selecionados então os acessos: UFPI 220, UFPI 222, UFPI 228, UFPI 229, UFPI 674, UFPI 728, UFPI 905, UFPI 968, UFPI 1186 e UFPI 1213 (Tabela 3).

Tabela 3 – Acessos superiores de *Phaseolus lunatus* L. selecionados do Banco Ativo de Germoplasma de *Phaseolus* com base na porcentagem de heterocromatina observada em núcleos metafásicos. Destacados em negrito se encontram marcados os acessos selecionados de cada característica, Teresina, 2018.

Característica favorável	Acessos (heterocromatina)
Crescimento determinado	UFPI 728 (28,1%)
	UFPI 229 (27%)
Número de dias para floração	UFPI 728 (28,1%)
	UFPI 968 (28,7%)
	UFPI 1205 (26,7%)
	UFPI 1206 (32,57%)
	UFPI 1213 (28,7%)
Número de sementes por vagem	UFPI 222 (28,4%)
	UFPI 228 (28,7%)
	UFPI 229 (27%)
	UFPI 1176 (29,5%)
	UFPI 1188 (21,1%)
	UFPI 1189 (27,1%)
	UFPI 1200 (31%)
	UFPI 1205 (26,7%)
	UFPI 1209 (30,3%)
UFPI 1213 (28,7%)	
	UFPI 1214 (30,5%)
Número de vagens por planta	UFPI 220 (28,6%)
	UFPI 243 (23,8%)
Volume da semente	UFPI 1183 (38,7%)
	UFPI 1186 (29,9%)
Produtividade por planta	UFPI 674 (26,6%)
Resistente à antracnose	UFPI 220 (28,6%)
	UFPI 251 (23,1%)
	UFPI 832 (30,2%)
Resistência à <i>Macrophomina</i>	UFPI 892 (33,1%)
	UFPI 905 (27,2%)
	UFPI 908 (31,3%)
Média	28,81%

A partir da seleção dos 10 acessos identificados na Tabela 3, são possíveis 45 padrões de heterocromatina distintos, se fossem realizados cruzamentos aleatórios entre eles. Porém, como melhor estratégia de obtenção de um híbrido com o máximo de características favoráveis possíveis foi escolhida a realização de cruzamentos em etapas.

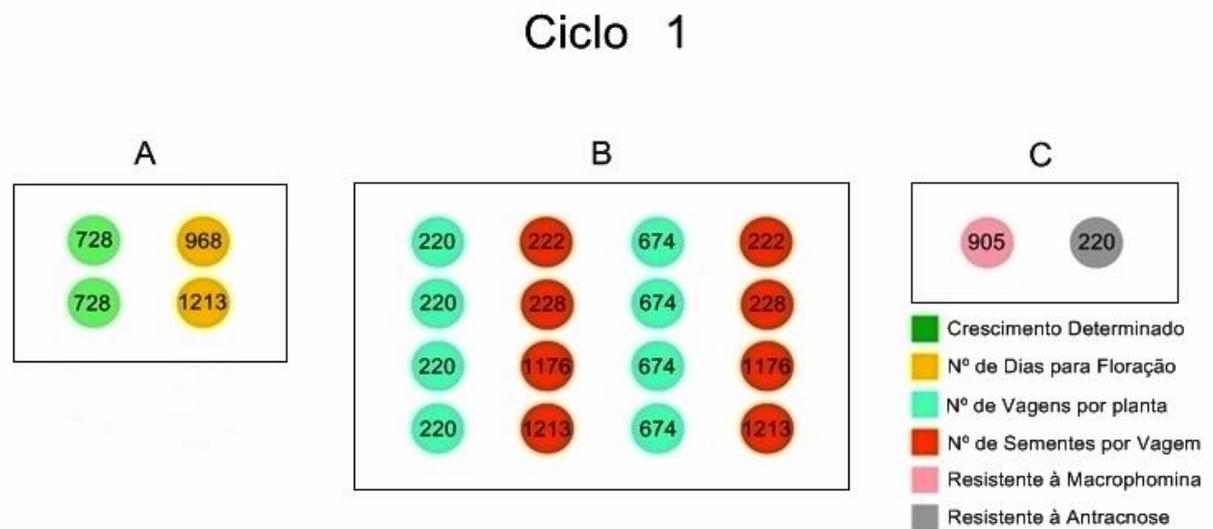
Propõe-se um programa de melhoramento em três ciclos, denominados: cruzamentos entre genitores crioulos, cruzamentos entre híbridos simples e cruzamentos entre híbridos duplos. O primeiro ciclo (Figura 6) se configura em três

grupos independentes e simultâneos de cruzamentos, “A, B e C”. O experimento “A” (Figura 7) corresponde aos acessos com características superiores quanto ao desenvolvimento da estrutura vegetal, crescimento determinado (UFPI 728) e poucos dias para floração (UFPI 968 e UFPI 1213). O experimento “B” (Figura 8) corresponde aos acessos com características superiores quanto à produtividade, alto número de vagens por planta (UFPI 220 e UFPI 674) e elevado número de sementes por vagem (UFPI 222, UFPI 228, UFPI 1176 e UFPI 1213). O experimento “C” (Figura 9) corresponde aos acessos com características superiores quanto à resistência a patógenos, resistência à Antracnose (UFPI 220) e resistente à *Macrophomina* (UFPI 905).

Os cruzamentos serão em esquema dialélico parcial, pois, não haverá cruzamentos entre todos os dispostos no campo, apenas entre os parentais homozigotos e entre os híbridos com ambas as características favoráveis. Serão realizados cruzamentos recíprocos, não havendo emasculação das flores que serão receptoras. Posteriormente, os híbridos e seus recíprocos serão avaliados para seleção recorrente fenotípica dos indivíduos que passarão para a próxima etapa de cruzamentos.

No segundo ciclo, cruzamentos dos híbridos simples (com duas características favoráveis), haverá dois experimentos independentes e simultâneos de cruzamentos, “AC e BC”, onde os acessos resistentes aos dois patógenos (*C. truncatum* e *M. phaseolina*) serão cruzados com os híbridos resultantes dos experimentos “A” e “B” do Ciclo 1. Nesse ciclo, a seleção recorrente fenotípica irá buscar os indivíduos com o máximo de características favoráveis, visto que provêm de genitores com quatro características superiores, cada.

No terceiro ciclo, cruzamentos dos híbridos duplos (com quatro características favoráveis), será realizado um único experimento em campo, “ABC” com os híbridos gerados pelos cruzamentos e seleções “AC e BC”, com a finalidade de obter um híbrido com todas as características favoráveis. Ao fim das seleções recorrentes fenotípicas será realizada uma seleção de progênie a aplicação do método genealógico para obtenção de gerações mais avançadas e com intuito de restaurar a homozigose.



Seleção recorrente fenotípica

Ciclo 2



Seleção recorrente fenotípica

Ciclo 3

Híbridos AC x Híbridos BC

Seleção recorrente fenotípica

Seleção de progênie e aplicação do método genealógico
para obtenção das gerações mais avançadas a fim de
restaurar a homozigose

Figura 6 – Proposta de três ciclos de cruzamentos para melhoramento de feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.) ordenados com base em análises citogenéticas do padrão heterocromático.

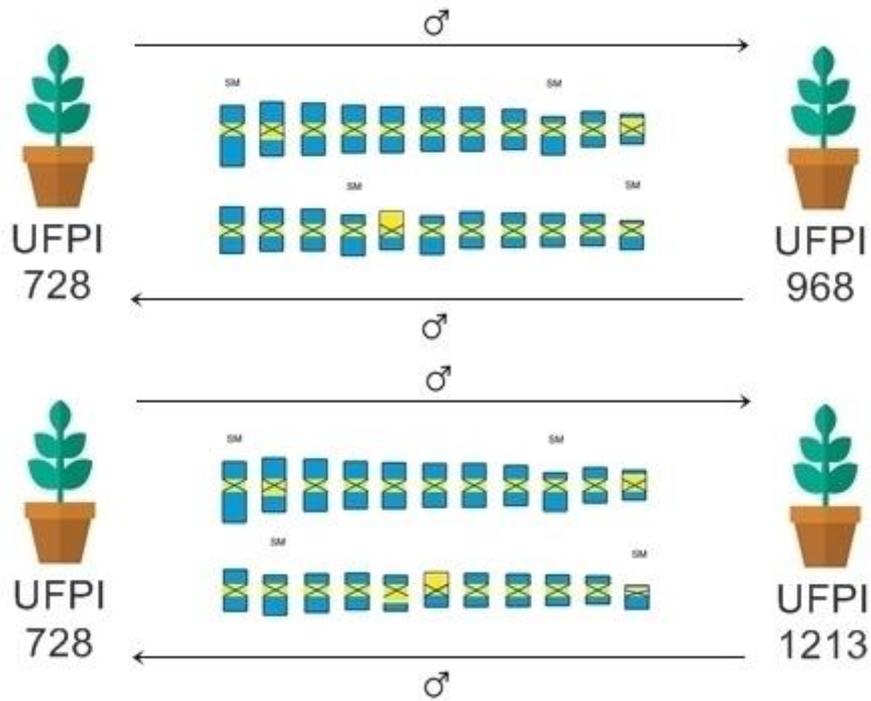


Figura 7 – Organização do Ciclo 1-A para cruzamento de feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.), com previsão dos blocos heterocromáticos no cariótipo dos híbridos F₁, sem mensuração de efeitos epigenéticos sobre o padrão.

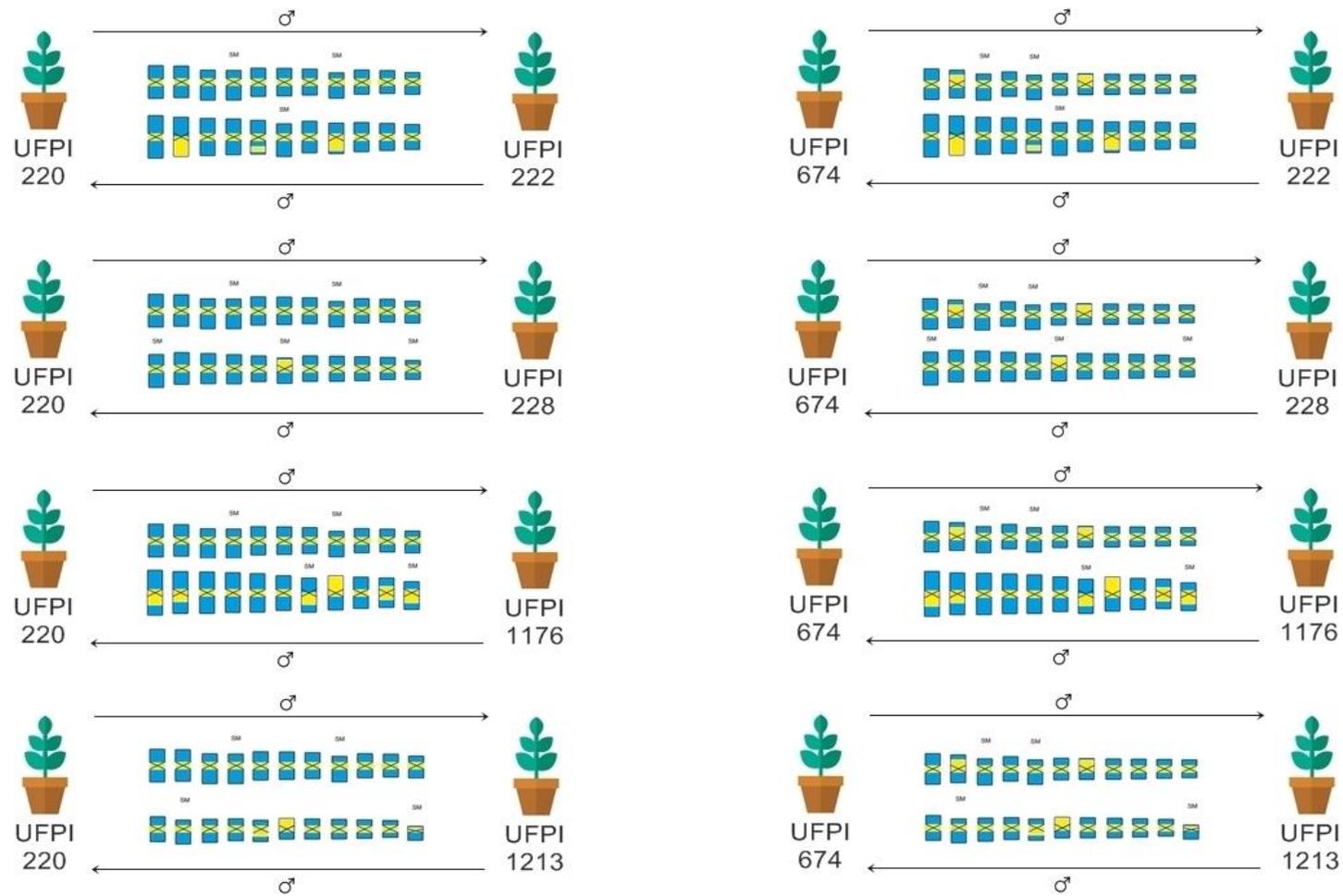


Figura 8 – Organização do Ciclo 1-B para cruzamento de feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.), com previsão dos blocos heterocromáticos no cariótipo dos híbridos F₁, sem mensuração de efeitos epigenéticos sobre o padrão.

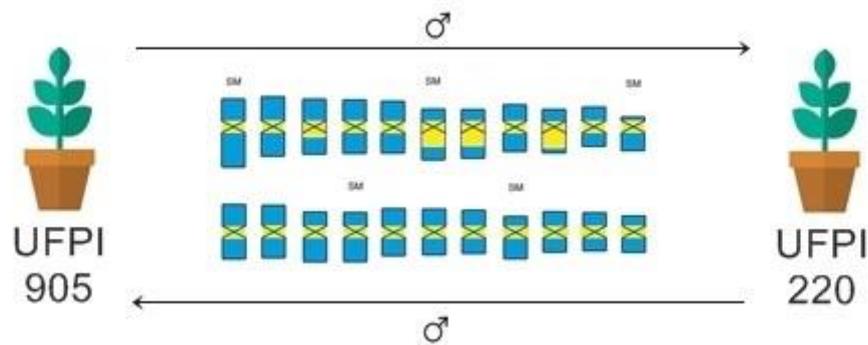


Figura 9 – Organização do Ciclo 1-C para cruzamento de feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.), com previsão dos blocos heterocromáticos no cariótipo dos híbridos F₁, sem mensuração de efeitos epigenéticos sobre o padrão.

Propõe-se a realização de cruzamentos dialélicos parciais multiparentais com seleção recorrente fenotípica. Realização das hibridações pelo período da manhã e tarde, entre 8h e 11h da manhã e entre 14h e 18:30h, conforme (RAMOS, 2009; GONÇALVES, 2015; SOUSA et al., 2015), utilizando quatro plantas como parcela para os cruzamentos, as quais serão germinadas em vasos com 15 sementes em cada vaso (MOREIRA et al., 2010), buscando a identificação das melhores populações segregantes para maximizar a eficiência da seleção (LIMA et al. 2015). Na Tabela 4 pode-se encontrar todos os valores de heterocromatina para os cruzamentos realizados com qualquer um dos vinte quatro acessos selecionados nesse estudo.

Segundo Pádua (2015), a seleção precoce feita em F₂ e F₃ para resistência a antracnose em feijão-comum não reduz a variabilidade para produção de grãos em gerações posteriores, a seleção de plantas resistentes a antracnose em F₂ ou F₂ e F₃ aumenta o sucesso na seleção para produção de grãos em gerações mais avançadas.

Tabela 4 – Previsão de heterocromatina nos híbridos intraespecíficos de feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.), com base em 24 acessos com características agronomicamente superiores do Banco Ativo de Germoplasma de *Phaseolus* da Universidade Federal do Piauí. Sublinhados e em negrito estão marcados os valores de heterocromatina esperados nos híbridos das figuras 7, 8 e 9.

UFPI	220	222	228	229	243	251	674	728	832	892	905	908	968	1176	1183	1186
220	28,64	<u>28,52</u>	<u>28,67</u>	27,86	26,22	25,89	27,61	28,38	29,4	30,89	<u>27,94</u>	29,98	28,69	<u>29,09</u>	33,7	29,26
222		28,41	28,56	27,75	26,1	25,78	<u>27,5</u>	28,27	29,28	30,77	27,83	29,86	28,58	28,97	33,59	29,15
228			28,71	27,9	26,25	25,93	<u>27,65</u>	28,42	29,43	30,92	27,98	30,01	28,73	29,12	33,74	29,3
229				27,09	25,44	25,12	26,84	27,61	28,62	30,11	27,17	29,2	27,92	28,31	32,93	28,49
243					23,8	23,47	25,19	25,96	26,98	28,47	25,52	27,56	26,27	26,67	31,28	26,84
251						23,15	24,87	25,64	26,65	28,14	25,2	27,23	25,95	26,34	30,96	26,52
674							26,59	27,36	28,37	29,86	26,92	28,95	27,67	<u>28,06</u>	32,68	28,24
728								28,13	29,14	30,63	27,69	29,72	<u>28,44</u>	28,83	33,45	29,01
832									30,16	31,65	28,7	30,74	29,45	29,85	34,46	30,02
892										33,14	30,19	32,23	30,94	31,34	35,95	31,51
905											27,25	29,28	28	28,39	33,01	28,57
908												31,32	30,03	30,43	35,04	30,6
968													28,75	29,14	33,76	29,32
1176														29,54	34,15	29,71
1183															38,77	34,33
1186																29,89

Continua...

CONCLUSÕES

A técnica citogenética de dupla coloração com os fluorocromos CMA/DAPI permite análise e caracterização dos acessos de *P. lunatus* L. pertencentes ao Banco Ativo de Germoplasma de *Phaseolus* da Universidade Federal do Piauí (BGP-UFPI), sem observação de polimorfismos cromossômico quanto à morfometria, não possibilitando a diferenciação dos acessos.

A análise do padrão de distribuição da heterocromatina exibindo bandas além das pericentroméricas e da banda terminal no par 6, demonstra que há variação entre diferentes genótipos.

Cruzamentos intraespecíficos baseando-se nas mensurações de heterocromatina constitutiva feitas a partir da técnica de CMA/DAPI, podem ser propostos buscando híbridos com proporções de heterocromatina similares à média da espécie, a fim de evitar mudanças nos fenótipos dos híbridos. Porém, deve-se considerar a existência de modificações na proporção de heterocromatina dos híbridos por efeitos e processos epigenéticos.

Se mostram necessários estudos posteriores nesses acessos utilizando BAC-FISH para conhecimento e acompanhamento do comportamento cromossômico dos híbridos, a fim de melhor conhecer os mecanismos de evolução da espécie e do gênero, assim como, estudos de caracterização do comportamento meiótico e mitótico nos parentais e híbridos.

REFERÊNCIAS

- ABREU, A. F. B.; RAMALHO, M. A. P.; CARNEIRO, J. E. S.; PELOSO, M. J. D.; PAULA-JUNIOR, T. J.; FARIA, L. C.; MELO, L. C.; BARROS, E. G.; MOREIRA, M. A.; PEREIRA-FILHO, I. A.; MARTINS, M.; SANTOS, J. B.; RAVA, C. A.; COSTA, J. G. C.; SARTORATO, A. BRSMG Majestoso: another common bean cultivar of carioca grain type for the state of Minas Gerais. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 7, p. 403-405, 2007.
- ALMEIDA, C. C. S. **Análise citogenética e molecular em milho (*Zea mays* subsp. *Mays*), teosinto, (*Zea mays*, subsp. *Mexicana*) e em seus híbridos**. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 47p., 2003.
- ALMEIDA, C. C. S. **Mapeamento físico e análise evolutiva em *Phaseolus vulgaris* L. e *P. lunatus* L., utilizando hibridização in situ fluorescente (FISH)**. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas). Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 74p., 2006.
- ALMEIDA, C.; PEDROSA-HARAND, A. High macro-collinearity between lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) and the common bean (*P. vulgaris* L.) as revealed by comparative cytogenetic mapping. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 126, p. 1909–1916, 2013.
- ALVES, A. F.; MENEZES JÚNIOR, J. A. N.; MENEZES, V. M. P. S.; CARNEIRO, J. E. S.; CARNEIRO, P. C. S.; ALVES, A. F. Genetic progress and potential of common bean families obtained by recurrent selection. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 15, p. 218-226, 2015.
- ANDUEZA-NOH, R. H.; SERRANO-SERRANO, M. L.; CHACÓN SÁNCHEZ, M. I.; SANCHEZ DEL PINO, I.; CAMACHO-PÉREZ, L.; COELLO-COELLO, J.; CORTES, J. M.; DEBOUCK, D. G.; MARTÍNEZ-CASTILLO, J. 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. 142, p. 657- 669, 2015.
- ARANTES, L. O.; ABREU, A. F. B.; RAMALHO, M. A. P. Eight cycles of recurrent selection for resistance to angular leaf spot in common bean. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 10, p. 232-237, 2010.
- ARAYA, C. M.; ALLEYNE, A. T.; STEADMAN, J. R.; ESKRIDGE, K. M.; COYNE, D. P. Phenotypic and genotypic characterization of *Uromyces appendiculatus* from *Phaseolus vulgaris* L. in the Americas. **Plant Disease**, v. 88, p. 830-836, 2004.
- ASSUNÇÃO-FILHO, J. R. **Caracterização de populações da variedade crioula Boca de moça de feijão-fava utilizando caracteres agromorfológicos e marcadores moleculares**. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento). Universidade Federal do Piauí, Teresina, 88p., 2012.

- ASSUNCAO-FILHO, J. R.; PENHA, J.S.; LOPES, A. C. A.; GOMES, R. L. F.; SILVA, K. J. D.; DIAS, C. T. S. Morphoagronomic characterization of lima bean populations Boca de Moça landraces. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, v. 56, p. 153-154, 2013.
- BARABASCHI, D.; TONDELLI, A.; DESIDERIO, F.; VOLANTE, A.; VACCINO, P.; VALE, G.; CATTIVELLI, L. Next generation breeding. **Plant Science**, v. 242, p. 3–13, 2016.
- BATLEY, J.; EDWARDS, D. The application of genomics and bioinformatics to accelerate crop improvement in a changing climate. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 30, p. 78–81, 2016.
- BENNETT, M. D. Nuclear instability and its manipulation in plant breeding. **Philosophical Transactions of The Royal Society of London**, v. 292, p. 475-485, 1981.
- BENNETT, M. D.; GUSTAFSON, J. P. The effect of telomeric heterochromatin from secale cereale on triticale (x tritico-secale): the presence or absence of blocks of heterochromatin in isogenic backgrounds. **Canadian Journal of Genetics and Cytology**, v. 24, n. 1, p. 93-100, 1982.
- BERTOLDO, J. G. SANTOS, M. O. COUTINHO, G. L. SILVA, J. M. SILVA, R. P. FAVRETO, R. Avaliação de acessos de feijão para caracteres agrônômicos para o uso em programa de melhoramento. **Ambiência Guarapuava**, v.11, n.2, p. 295 – 306, 2015.
- BERTOLDO, J. G.; COIMBRA, J. L. M.; GUIDOLIN, A. F.; DE ANDRADE, L. R. B.; NODARI, R. O. Agronomic potential of genebank landrace elite accessions for common bean genetic breeding. **Scientia Agricola**. v. 71, n. 2, p.120-125, 2014.
- BESPALHOK; J.C.; GUERRA, E.P.; OLIVEIRA, R. Seleção Recorrente. In: BESPALHOK, J.C; GUERRA, E.P.; OLIVEIRA, R. **Melhoramento de Plantas**. 2013. Disponível em <www.bespa.agrarias.ufpr.br>, p.11-15.
- BEVAN, M.W.; UAUY, C.; WULFF, B.B.; ZHOU, J.; KRASILEVA, K.; CLARK, M.D. Genomic innovation for crop improvement. **Nature**, v. 543, p. 346–354, 2017.
- BEZERRA NETO, F. V. Descritores quantitativos na estimativa da divergência genética entre genótipos de mamoneira utilizando análises multivariadas. **Revista Ciência Agrônômica**, v. 41, n. 2, p. 294-299, 2010
- BIGIRIMANA, J.; HÖFTE, M. Bean anthracnose: inoculation methods and influence of plant stage on resistance of *Phaseolus vulgaris* L. cultivars. **Journal of Phytopathology**, v. 149, p. 403-408, 2001.
- BOECHAT, L. T.; PINTO, F. A. C.; PAULA JÚNIOR, T. J.; QUEIROZ, D. M.; TEIXEIRA, H. Detecção do mofobranco no feijoeiro, utilizando características espectrais. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 61, n. 6, p. 907-915, 2014.
- BONIFÁCIO, E. M.; FONSÊCA, A.; ALMEIDA, C.; DOS SANTOS, K. G. B.; PEDROSA-HARAND, A. Comparative cytogenetic mapping between the lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) and the common bean (*P. vulgaris* L.). **Theoretical and Applied Genetics**, v. 124, p. 1513–1520, 2012.

- BRITO, M. V. **Caracterização morfoagronômica e seleção de acessos de feijão-fava resistentes ao *Colletotrichum truncatum***. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento). Universidade Federal do Piauí, Teresina, 65p., 2017.
- BROUGHTON, W.J. HERNANDEZ, G. BLAIR, M. BEEBE, S. GEPTS, P. VANDERLEYDEN, J. Beans (*Phaseolus spp.*) – model food legumes. **Plant and Soil**, v. 252, p. 55-128.
- CAMACHO-PÉREZ, L.; MARTÍNEZ-CASTILLO, J.; MIJANGOS-CORTÉS, J. O.; FERRER-ORTEGA, M. M.; BAUDOIN, J. P.; ANDUEZA-NOH, R. H. Genetic structure of Lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) landraces grown in the Mayan área. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 65, p. 229–241, 2018.
- CAMARGO, L. E. A.; BERGAMIN FILHO, A. Controle Genético. In: AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A. **Manual de Fitopatologia: Princípios e Conceitos**. 4. ed. Piracicaba: Editora Agronômica Ceres Ltda., v. 4, 720– 756, 2011.
- CARGNIN, A. **Seleção recorrente no melhoramento genético de plantas autógamas**. Embrapa Cerrados, Brasília, 24p., (Documentos 184), 2007.
- CARVALHO, B. L.; GUILHERME, S. R.; GUEDES, M. L.; FERREIRA, R. A. D. C.; CARDOSO, G. A.; NHANENGUE, C. L.; RODRIGUES, C. S.; TEIXEIRA, R. K. S.; ALVES, N. B.; RAMALHO, M. A. P. **Síndrome da domesticação das plantas cultivadas**. Lavras: FUNDECC, 2014.
- CARVALHO, E. M. S.; BESERRA JR., J. E. A.; BARGUIL, B. M. Lima Bean Diseases. In: LOPES, A. C. A.; GOMES, R. L. F.; ARAUJO, A. S. F. *Phaseolus lunatus*. **Diversity, Growth and Production**. New York: Nova Science Publishers, Inc., p. 1–16, 2015.
- CASTIÑEIRAS, L.; WALÓN, L.; LEÓN, N.; SHAGARODSKY, T.; BARRIOS, O.; FERNÁNDEZ, L.; CRISTÓBAL, R.; FUNDORA-MAYOR, Z.; GARCÍA, M.; GIRAUDY, C.; FUENTES, V.; MORENO, V.; HERNÁNDEZ, F.; ARZOLA, D.; DE ARMAS, D. Manejo de la variabilidad de *Phaseolus lunatus* (frijol caballero) conservada en comunidades rurales de Cuba. **Revista del Jardín Botánico Nacional**, v. 29, p. 151-160, 2008.
- CAVALCANTE, G. R. S. **Reação de subamostras de feijão-fava à antracnose e seu controle com extrato de nim**. Dissertação (Mestrado em Agronomia). Universidade Federal do Piauí, Teresina, 62p., 2011.
- CAVALCANTE, G.R.S.; CARVALHO, E.M.S.; GOMES, R.L.F.; SANTOS, A.R.B.; SANTOS, C.M.P.M. Reação de subamostras de feijão-fava à Antracnose. **Summa Phytopathologica**, v.38, n. 4, p. 329- 333, 2012.
- 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, n. 1551, 2017.
- CHEL-GUERRERO, L.; DOMINGUEZ-MAGAÑA, M.; MARTÍNEZ-AYALA, A.; DÁVILA-ORTIZ, G.; BETANCUR-ANCONA, D. Lima Bean (*Phaseolus lunatus* L.) Protein Hydrolysates with ACE-I Inhibitory Activity. **Food and Nutrition Sciences**, v. 3, p. 511–521, 2012.

- CLEMENT, C. R.; CRISTO-ARAÚJO, M.; D'EECKENBRUGGE, G. C.; PEREIRA, A. A.; PICANÇO-RODRIGUES, D. Origin and Domestication of Native Amazonian Crops. **Diversity**, v. 2, p. 72–106, 2010.
- COELHO, C. M. M.; ZILIO, M.; SOUZA, C. A.; GUIDOLIN, A. F.; MIQUELLUTI, D. J. Características morfo-agronômicas de cultivares crioulas de feijão comum em dois anos de cultivo. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 31, n. 1, p. 1177-1186, 2010.
- COSTA, A. F. Antracnose da fava (*Phaseolus lunatus* L.) no Nordeste causada por *Colletotrichum dematium* f. *truncata*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.11, p. 315, 1986.
- DO CARMO M. D. S.; GOMES, R. L. F.; LOPES, A. C. A.; PENHA, J. S.; GOMES, S. O.; ASSUNÇÃO-FILHO, J. R. Genetic variability in samples of determinate growth lima bean. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 13, p. 158-164, 2013.
- DO CARMO, M. D. S. **Variabilidade genética e reação ao Colletotrichum truncatum em feijão-fava de crescimento determinado**. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento). Universidade Federal do Piauí, Teresina, 132p., 2011.
- DO CARMO, M. D. S.; CARVALHO, E. M. S.; GOMES, R. L. F.; LOPES, A. C. A.; CAVALCANTE, G. R. S. Avaliação de acessos de feijão-fava, para resistência a *Colletotrichum truncatum*, em condições de folhas destacadas e campo. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 41, n. 4, p. 292-297, 2015.
- DOS ANJOS, R. S. R. **Seleção recorrente fenotípica pelo diâmetro do hipocótilo no melhoramento da arquitetura do feijoeiro**. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 63p., 2015.
- ELIAS, H. T.; VIDIGAL, M. C. G.; GONELA, A.; VOGT, G. A. Variabilidade genética em germoplasma tradicional em feijão preto em Santa Catarina. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 42, n. 10, p. 1443- 1449, 2007.
- FALEIRO, F. G.; RAGAGNIN, V. A.; SCHUSTER, I.; CORRÊA, R.; GOOD-GOD, P. I.; BROMMONSHENKEL, S.; MOREIRA, M. A.; BARROS, E. G. Mapeamento de genes de resistência do feijoeiro à ferrugem, antracnose e mancha-angular usando marcadores RAPD. **Fitopatologia Brasileira**, v. 28, p. 59-66, 2003.
- FEIJÓ, F. M.; SILVA, W. C.; ASSUNÇÃO, I. P.; MARTINS, R. B.; MICHEREFF, S. J.; LIMA, G. S. A. Análise de escala diagramática para avaliação da severidade da Antracnose das vagens de feijão-fava. **Ciência Agrícola**, Rio Largo, v. 15, n. 1, p. 43-51, 2017.
- FERREE, P. M.; BARBASH, D. A. Species-specific heterochromatin prevents mitotic chromosome segregation to cause hybrid lethality in *Drosophila*. **PLoS Biology**, v. 7, p. 10, 2009.
- FLANNERY, K. V. The research problem. In NAQUITZ, G, **Archaic foraging and early agriculture in Oaxaca**, Mexico. Orlando: Academic Press, p. 3-18, 1986.
- FLAVEL, R. B. Innovations continuously enhance crop breeding and demand new strategic planning. **Global Food Security**, v. 12, p. 15–21, 2017.
- FLORA DO BRASIL. *Fabaceae in Flora do Brasil 2020 em construção*. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB115>>. Acesso em: 28 Fev. 2018.

- FOFANA, B.; BAUDOIN, J. P.; VEKEMANS, X.; DEBOUCK, D. G.; JARDIN, P. Molecular evidence for an Andean origin and a secondary gene pool for the Lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) using chloroplast DNA. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 98, p. 202–212, 1999.
- FOFANA, B.; JARDIN, P.; BAUDION, J. P. Genetic diversity in the Lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) as revealed by chloroplast DNA (cpDNA) variations. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 48, p. 437–445, 2001.
- FOFANA, B.; VEKEMANS, X.; DU 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.
- FONSÊCA, A.; FERRAZ, M. E.; PEDROSA-HARAND, A. Speeding up chromosome evolution in *Phaseolus*: multiple rearrangements associated with a one-step descending dysploidy. **Chromosoma**, v. 125, p. 413–421, 2016.
- FONSÊCA, A.; FERREIRA, J.; DOS SANTOS, T. R. B.; MOSIOLEK, M.; BELLUCCI, E.; KAMI, J.; GEPTS, P.; GEFFROY, V.; SCHWEIZER, D.; DOS SANTOS, K. G. B.; PEDROSA-HARAND, A. Cytogenetic map of common bean (*Phaseolus vulgaris* L. L.). **Chromosome Research**, v. 18, p. 487–502, 2010.
- FOUILLOUX, G.; BANNEROT, H. Selection Methods in the common bean (*Phaseolus vulgaris* L. L.). In: GEPTS, P. (Ed). **Genetic Resources of *Phaseolus* beans: their maintenance, domestication, evolution, and utilization**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1988. p 503-541.
- GARCIA, F. A. O.; ROMEIRO, R. S. Biocontrole da mancha-angular do feijoeiro por antagonistas bacterianos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 46, n. 12, p. 1603-1608, 2011.
- GARCIA, R. E.; ROBINSON, R. A.; AGUILAR, J. A. P.; SANDOVAL, S. S.; GUZMAN, R. P. Recurrent selection for quantitative resistance to soil borne diseases in beans in the Mixteca region, México. **Euphytica**, v. 130, p. 241-247, 2003.
- GARRIDO-RAMOS, M. A. Satellite DNA in plants: more than just rubbish. **Cytogenetic and Genome Research**, v. 146, p. 153–170, 2015.
- GEPTS, P. Crop domestication as a long-term selection experiment. **Plant Breeding Reviews**. p. 1-44, 2004.
- GEPTS, P. Origin and evolution of common bean: past events and recent trends. **Horticultural Science**, v. 33, p. 1124–1130, 1998.
- GERALDI, I. O. Selección recurrente en el mejoramiento de plantas. In: GUIMARÃES, E. P. (Ed.). **Selección recurrente en arroz**. CIAT: Cali, 1997. p. 3-11.
- GONÇALVES, D. L.; AMBROZIO, V. C.; BARELLI, M. A. A. Divergência genética de acessos tradicionais de feijoeiros através de características da semente. **Bioscience Journal**, v. 30, n. 6, p. 1671- 1681, 2014.
- GONÇALVES, J. G. R.; CHIORATO, A. F.; DA SILVA, D. A.; ESTEVES, J. A. F.; BOSETTI, F.; CARBONELL, S. A. M. Análise da capacidade combinatória em feijoeiro comum submetido ao déficit hídrico. **Bragantia**, Campinas, v. 74, n. 2, p.149-155, 2015.

- GONG, Z.; YU, H.; HUANG, J.; YI, C.; GU, M. Unstable transmission of rice chromosomes without functional centromeric repeats in asexual propagation. **Chromosome Research**, v. 17, p. 863–872, 2009.
- GUERRA, M. Cytogenetics of Rutaceae V. High chromosomal variability in Citrus species revealed by CMA/DAPI staining. **Heredity**, v. 71, p. 241-243, 1993.
- GUERRA, M. **Introdução à citogenética geral**. Rio de Janeiro: Guanabara, 142p, 1988.
- GUERRA, M. Patterns of heterochromatin in plant chromosomes. **Genetics and Molecular Biology**, v. 23, p. 1029-1041, 2000.
- GUIMARÃES, W. N. R.; MARTINS, L. S. S.; SILVA, E. F.; FERRAZ, G. M. G.; OLIVEIRA, F. J. Caracterização morfológica e molecular de acessos de feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.). **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 11, n. 1, p. 37- 45, 2007.
- GUPTA, G. K.; SHARMA, S. K.; RAMTEKE, R. Biology, Epidemiology and Management of the Pathogenic Fungus *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid with Special Reference to Charcoal Rot of Soybean (*Glycine max* (L.) Merrill). **Journal of Phytopathology**, v. 160, n. 4, p. 167–180, 2012.
- GUTIÉRREZ-SALGADO, A.; GEPTS, P.; DEBOUCK, D. G. Evidence for two gene pools in the Lima bean, *Phaseolus lunatus* L. in the Americas. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 4, p. 15–28, 1995.
- GUTIÉRREZ-SALGADO, A.; GEPTS, P.; DEBOUCK, D. G. Evidence for two gene pools of the lima bean, *Phaseolus lunatus* L., in the Americas. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 42, p. 15–28, 1995.
- HARLAN, J. R. **Crops and Man: Foundation for Modern Crop Science**. Madison, Wisconsin: American Society of Agronomy; 1975.
- HENRY, R. J.; NEVO, E. Exploring natural selection to guide breeding for agriculture. **Plant Biotechnology Journal**, v. 12, p. 655–662, 2014.
- HENRY, R. J. **Plant Resources for Food, Fuel and Conservation**. London, UK: Earthscan. 200 p., 2010.
- IBGE. **Pesquisa de Produção Agrícola Municipal**. 2016. Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br>>. Acesso em: 6 de Jan. 2018.
- IKEDA, H. Karyomorphological studies on the genus *Crepis* with special reference to C-banding pattern. **J Sci Hiroshima Univ**, v. 22, p. 65–117, 1988.
- IQBAL, U.; MUKHTAR, T. Morphological and pathogenic variability among *Macrophomina phaseolina* isolates associated with mungbean (*Vigna radiata* L.) Wilczek from Pakistan. **The Scientific World Journal**, v. 2014, p. 1–9, 2014.
- J. PILCH. Analysis of the Rye Chromosome Constitution and the Amount of Telomeric Heterochromatin in the Widely and Narrowly Adapted Hexaploid Triticales. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 60, p. 145-149, 1981.
- JOHNSON, R. A critical analysis of durable resistance. **Annual Review of Phytopathology**, v. 22, p. 309-330, 1984.

- KALTSIKES, P. J.; GUSTAFSON, J. P. The improvement of meiotic stability in triticale. **Canadian Journal of Genetics and Cytology**, v. 22, n. 4, p. 666, 1980.
- KAPLAN, L. Archeology and domestication in American *Phaseolus* (beans). **Economic Botany**, v. 19, p. 358–368, 1965.
- KAPLAN, L.; LYNCH, T. F. *Phaseolus* (Fabaceae) in archaeology: AMS. **Economic Botany**, v. 53, p. 261–272, 1999.
- KARL, H. Das domestikations syndrom. **Kueturpflanze**, v. 32, p. 11-14, 1984.
- KAUR, S.; DHILLON, G. S.; BRAR, S. K.; VALLAD, G. E.; CHAND, R.; CHAUHAN, V. B. Emerging phytopathogen *Macrophomina phaseolina*: biology, economic importance and current diagnostic trends. **Critical Reviews in Microbiology**, v. 38, n. 2, p. 136–51, 2012.
- KEE, E.; GLANCEY, J. L.; WOOTTEN, T. L. The lima bean: A vegetable crop for processing. **HortTechnology**, v. 7, n. 2, p. 119–129, 1997.
- KELLY, J. D.; AFANADOR, L.; HALEY, S. S. Pyramiding genes resistance to bean common mosaic virus. **Euphytica**, v. 82, p. 207-212, 1995.
- KHANALA, A. R.; MISHRA, A. K. Enhancing food security: Food crop portfolio choice in response to climatic risk in India. **Global Food Security**, v. 12, p. 22-30, 2017.
- KIM, J. S.; ISLAM-FARIDI, M. N.; KLEIN, P. E. Comprehensive molecular cytogenetic analysis of sorghum genome architecture: distribution of euchromatin, heterochromatin, genes and recombination in comparison to rice. **Genetics**, v. 171, p. 1963–1976, 2005.
- LARSON, G.; BURGER, J. A population genetics view of animal domestication. **Trends in Genetics**, v. 29, p. 197–205, 2013.
- LAVINSCKY, M. P.; SOUZA, M. M.; SILVA, G. S.; MELO, C. A. F. Contributions of classical and molecular cytogenetic in meiotic analysis and pollen viability for plant breeding. **Genetics and Molecular Research**, v. 16, n. 3, 2017.
- LIMA, D. A.; ABREU, A. F. B.; FERREIRA, R. A. D. C.; RAMALHO, M. A. P. Breeding common bean populations for traits using selection index. **Scientia Agricola**. v.72, n.2, p.132-137, 2015.
- LIMA-DE-FARIA, A. The chromosome field I: Prediction of the location of ribosomal cistrons. **Hereditas**, v. 83, n. 1, p. 1-22, 1976.
- LIOI, L.; GALASSO, I. Oligonucleotide DNA fingerprinting revealing polymorphism in *Phaseolus lunatus* L. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 49, p. 53–58, 2002.
- LIOI, L.; LOTTI, C.; GALASSO, I. Isozyme diversity, RFLP of the rDNA and phylogenetic affinities among cultivated Lima beans, *Phaseolus lunatus* (Fabaceae). **Plant Systematics and Evolution**, v. 213, p. 153–164, 1998.
- LIOI, L.; Phaseolin diversity in wild Lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) in American centres of origin. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 43, p. 575–580, 1996.
- LIOI, L.; SPARVOLI, F.; BOLLINI, R. Variation and genomic polymorphism of lectin-related proteins in Lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) seeds. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 46, p. 175–182, 1999.

- LOARCE, Y.; GALLEGRO, R.; FERRER, E. A comparative analysis of the genetic relationship between rye cultivars using RFLP and RAPD markers. **Euphytica**, Wageningen, v. 88, n. 2, p. 107-115, 1996.
- LONG, R.; TEMPLES, S.; MEYER, R.; SCHWANKL, L.; ODFREY, L.; CANEVARI, M.; ROBERTS, P. Lima Bean Production in California. **University of California, ANR**, n. 8505, p. 25, 2014.
- LOPES, A. C. A.; GOMES, R. L. F.; SILVA, R. N. O.; COSTA, E. M. R.; SOUSA, I. F. S.; SANTOS, J. O.; SOUSA, T. H. P.; SILVA, K. J. D. Diversidade Genética. In: ARAÚJO, A. S. F. de.; LOPES, A. C. de. A.; GOMES, R. L. F. (Org.). **A cultura do feijão-fava na Região Meio-Norte do Brasil**. 1ª ed. Teresina: EDUFPI, v. 1, p. 45-72, 2010.
- LÓPEZ-ALCOCER, J. J.; LÉPIZ-ILDEFONSO, R.; GONZÁLEZ-EGUIARTE, D. R.; RODRÍGUEZ-MACÍAS, R.; LÓPEZ-ALCOCER, E. Variabilidad morfológica de *Phaseolus lunatus* L. silvestre de la región occidente de México. **Revista Fitotecnia Mexicana**, v. 39, n.1, p. 49 - 58, 2016.
- MACNEISH, R. S. **Preliminary Archaeological Investigation in the Sierra Tamaulipas**, Mexico. Philadelphia: Transactions of the American Philosophical Society, 1958.
- MACNEISH, R. S. **The Origins of Agriculture and Settled Life**. Norman and London: University of Oklahoma Press, 1992.
- MACNEISH, R. S.; PETERSON, F. A. The Santa Marta rock shelter, Ocozocoatlá, Chiapas. **Papers New World Archeological Found**, v. 14, p. 1–6, 1962.
- MAQUET, A.; VEKEMANS, X.; 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, p. 43–54, 1999.
- MAQUET, A.; ZORO, B. I. I.; DELVAUX, M.; WATHELET, B.; BAUDOIN, J. P. Genetic structure of the Lima bean base collection using allozyme markers. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 95, p. 980–991, 1997.
- MARITA, J. M.; RODRIGUEZ, J. M.; NIENHUIS, J. Development of an algorithm identifying maximally diverse core collections. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 47, p. 515-526, 2000.
- MARTÍNEZ-CASTILLO, J. Consideraciones sobre la importancia del muestreo en los estudios de la domesticación de plantas: el caso del frijol lima (*Phaseolus lunatus*) en México. **Desde el Herbario CICY**, v. 7, p. 17-22, 2015.
- MARTÍNEZ-CASTILLO, J.; CAMACHO-PÉREZ, L.; COELLO-COELLO, J.; ANDUEZA-NOH, R.H. 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.; CAMACHO-PÉREZ, L.; VILLANUEVA-VIRAMONTES, S.; ANDUEZA-NOH, R. H.; CHACON-SÁNCHEZ, M. I. 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.; 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.
- MEDEIROS, E. C. N. **Caracterização citogenética e morfológica de acessos de feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.) do banco de germoplasma da UFPI**. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento). Universidade Federal do Piauí, Teresina, 69p., 2017.
- MELO, V. L. **Progresso genético e potencial de famílias e linhagens de dois ciclos de seleção recorrente no melhoramento de feijão vermelho**. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 37p., 2016.
- MENDES, S.; MORAES, A. P.; MIRKOV, T. E.; PEDROSA-HARAND, A. Chromosome homeologies and high variation in heterochromatin distribution between Citrus L. and Poncirus Raf. as evidenced by comparative cytogenetic mapping. **Chromosome Research**, v. 19, n. 4, p. 521-30, 2011.
- MENEZES-JÚNIOR, J. A. N.; RAMALHO, M. A. P.; ABREU, A. F. B. Seleção recorrente para três caracteres do feijoeiro. **Bragantia**, v. 67, p. 833-838, 2008.
- MERCADO-RUARO, P.; DELGADO-SALINAS, A. Cytogenetics studies in *Phaseolus vulgaris* L. L. (Fabaceae). **Genetics and Molecular Biology**, v. 23, p. 985-987, 2000.
- MEYER, R. S.; PURUGGANAN, M. D. Evolution of crop species: genetics of domestication and diversification. **Nature Reviews Genetics**, v. 14, p. 840–852, 2013.
- MICHELMORE, R. Molecular approaches to manipulation of diseases resistance genes. **Annual Review of Phytopathology**, v. 15, p. 393-427, 1995.
- MODA-CIRINO, V.; OLIARI, L.; FONSECA-JÚNIOR, N. S.; LOLLATO, M. A. IPR Graúna – common bean cultivar. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 3, p. 301-302, 2003.
- MONTERO-ROJAS, M.; ORTIZ, M.; BEAVER, J. S.; SIRITUNGA, D. 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.
- MOREIRA, S. O.; SILVA, M. G. M.; RODRIGUES, R.; VIANA, A. P.; PEREIRA, M. G. Breeding methods and history of bean cultivars released in CBAB - Crop Breeding and Applied Biotechnology. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 10, p. 345-350, 2010.
- MOSCONE, E. A.; KLEIN, F.; LAMBROU, M.; FUCHS, J.; SCHWEIZER, D. Quantitative karyotyping and dual-color FISH mapping of 5S and 18S-25S rDNA probes in the cultivated *Phaseolus* species (Leguminosae). **Genome**, v. 42, n. 6, p. 1224-1233, 1999.
- MOSES, O.; OLAWUNI, I.; JO, I. The proximate composition and functional properties of full-fat flour and protein isolate of Lima Bean (*Phaseolus lunatus* L.). **Open Access Scientific Reports**, v. 1, n. 7, p. 1–5, 2012.

- MOTA, J. M. **Diversidade fúngica e transmissão de *Colletotrichum truncatum* e *Macrophomina phaseolina* em sementes de feijão-fava.** 2016. Dissertação (Mestrado em Agronomia). Universidade Federal do Piauí, Teresina, 63p., 2016.
- MOTA, J. M.; MELO, M. P.; SILVA, F. F. S.; SOUSA, E. M. J.; SOUSA, E. S.; BARGUIL, B. M.; BESERRA-JR, J. E. A. Fungal diversity in Lima bean seeds. **Brazilian Journal of Biosystems Engineering**, v. 11, n. 1, p. 79-87, 2017.
- MOTTA-ALDANA, J. R.; SERRANO-SERRANO, M. L.; HERNÁNDEZ-TORRES, J.; CASTILLO-VILLAMIZAR, G.; DEBOUCK, D. G. Multiple origins of lima bean landraces in the Americas: evidence from chloroplast and nuclear DNA polymorphisms. **Crop Science**, v. 50, p. 1773–1787, 2010.
- MUNGUÍA, M. E. G. **Seleção de acessos de feijão-fava resistentes a *Macrophomina phaseolina*.** Dissertação (Mestrado em Agronomia). Universidade Federal do Piauí, Teresina, 63p., 2017.
- NAGAKI, K.; TALBERT, P. B.; ZHONG, C. X.; DAWE, R. K.; HENIKOFF, S.; JIANG, J. Chromatin immunoprecipitation reveals that the 180- bp satellite repeat is the key functional DNA element of Arabidopsis thaliana centromeres. **Genetics**, v. 163, p. 1221–1225, 2003.
- NASCIMENTO, A. D.; FEIJÓ, F. M.; ALBUQUERQUE, A. W.; ASSUNÇÃO, I. P.; LIMA, G. S. A.; REIS, L. S. Severidade da Antracnose do feijão-fava afetada por doses de cálcio e fontes de silício. **Ciência Agrícola**, Rio Largo, v. 15, n. 2, p. 61-68, 2017.
- NASCIMENTO, M. G. R.; ALVES, E. U.; DA SILVA, M. L. M.; RODRIGUES, C. M. Lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) seeds exposed to different salt concentrations and temperatures. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 30, n. 3, p. 738 – 747, 2017.
- NASS, L. L. **Recursos genéticos vegetais.** Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 687p., 2007.
- NOETZOLD, R.; ALVES, M. C.; CASSETARI NETO, D.; MACHADO, A. Q. Variabilidade espacial de *Colletotrichum truncatum* em campo de soja sob três níveis de sanidade de sementes. **Summa Phytopathologica**, v. 40, n. 1, Botucatu, 2014.
- OLIVEIRA, A. E. S.; SIMEÃO, M.; MOUSINHO, F. E. P.; GOMES, R. L. F. Desenvolvimento do feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.) sob déficit hídrico. **HOLOS**, v. 1, p. 143–151, 2014.
- OLIVEIRA, M. C. P.; MEIRELLES, A. C. S.; LOPES, A. C. A.; COSTA, M. F. Phenology, Vegetative Development and Pollen Viability. Accessions. In: FERREIRA, A. S.; LOPES, A. C. DE A.; GOMES, R. L. F. (Eds.). *Phaseolus lunatus*. **Diversity, Growth and Production**. 1. ed. New York: Nova Science publishers, Inc., p. 1-26, 2015.
- OLIVEIRA, R. S.; QUEIRÓZ, M. A. Banco Ativo de Germoplasma de *Stylosanthes* spp. da Universidade Estadual de Feira de Santana – BA. **Revista RG News**, v. 2, n. 2, 2016.
- OLIVEIRA, V. A.; MARTINS, L. P.; GONÇALVES, R. C.; BENÍCIO, L. P. F.; COSTA, D. L.; LUDWIG, J. Use of seed treatment with fungicide in control of *Colletotrichum truncatum* and physiological quality of soybean seeds *Glycine max*. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, Tocantins, v. 4, p. 98- 106, 2013.

- PÁDUA, J. M. V.; RAMALHO, M. A. P.; ABREU, A. F. B. Implications of early selection for resistance to anthracnose in genetic breeding of common bean. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 15, p. 169-174, 2015.
- PAPP, C. S. Bean Anthracnose. **Cooperative Plant Pest Report for California**, Califórnia, v.3, n.39, p.1-7, 1980.
- PARSA, S.; GARCIA-LEMONS, A. M.; CASTILLO, K.; ORTIZ, V.; LOPEZLAVALLE, L. A. B.; JEROME, F. B. V. Fungal endophytes in germinated seeds of the common bean, *Phaseolus vulgaris* L.. **Fungal Biology**, v. 120, p. 783-790, 2016.
- PASTOR-CORRALES, M. A.; STAVELY, J. R. Using races of the common bean rust pathogen to detect resistance genes in *Phaseolus vulgaris* L.. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, v. 45, p. 78-79, 2002.
- PATANKAR, S.; RANJEKAR, P. K. Interphase nuclear structure and heterochromatin in *Phaseolus* plant species. **Plant Cell Reports**, v. 3, p. 130-133, 1984.
- PELLICCIARI, C.; FORMENTI, D.; ZUCCOTTI, M.; STANYON, R.; ROMANINI, M.G.M. Genome size and constitutive heterochromatin in *Hylobates muelleri* and *Symphalangus syndactylus* and in their viable hybrid. **Cytogenetics and Genome Research**, v. 47, n. 1-2, 1988.
- PENHA, J. S.; LOPES, A. C. A.; GOMES, R. L. F.; PINHEIRO, J. B.; ASSUNÇÃO FILHO, J. R.; SILVESTRE, E. A.; VIANA, J. P. G.; MARTÍNEZ-CASTILLO, J. 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.
- PHILLIPS, A. J. L.; ALVES, A.; ABDOLLHAZADEH, J.; SLIPPERS, B. WINGFIELD, M. J.; GROENEWALD, J. Z.; CROUS, P. W. The Botryosphaeriaceae: genera and species known from culture. **Studies in Mycology**, v. 76, p. 51-167, 2013.
- PICKERSGILL, B. Domestication of Plants in the Americas: Insights from Mendelian and Molecular Genetics. **Annals of Botany**, v. 100, p. 925-940, 2007.
- PICKERSGILL, B.; HEISER-JR, C. B. Cytogenetics and evolutionary change under domestication. **The Royal Society**, v. 275, p. 55-69, 1976.
- PIRES, C. J. **Divergência genética em introduções de *Phaseolus lunatus* L. do Banco de Germoplasma da Universidade Federal do Piauí**. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento). Universidade Federal do Piauí, Teresina, 66p., 2014.
- PURUGGANAN, M. D.; FULLER, D. Q. The nature of selection during plant domestication. **Nature**, v. 457, p. 843-848, 2009.
- RAMALHO, M. A. P.; ABREU, A. F. B.; SANTOS, J. B. Genetic progress after four cycles of recurrent selection for yield and grain traits in common bean. **Euphytica**, v. 144, n. 1-2, p. 23-29, 2005.
- RANERE, A.; PIPERNO, D.; HOLST, I.; DICKAU, R.; IRIARTE, J. The cultural and chronological context of early Holocene maize and squash domestication in the central Balsas River Valley, Mexico. **Proceedings of the National Academy of Science**, v. 106, p. 5014-5018, 2009.

RAY, D. K.; MUELLER, N. D.; WEST, P. C.; FOLEY, J. A. Yield trends are insufficient to double global crop production by 2050. **PLoS ONE**, v. 8, 2013.

RAY, D.K.; RAMANKUTTY, N.; MUELLER, N.D.; WEST, P.C.; FOLEY, J.A. Recent patterns of crop yield growth and stagnation. **Nature Communications**, v. 3, n. 1293, 2012.

REIFSCHEIDER, F. J. B.; NASS, L. L.; HENZ, G. P. (org). 2015. **Uma pitada de biodiversidade na mesa dos brasileiros**. Brasília, DF: [s.n.]. 156 p. il., color. Acessado em 18 de fevereiro de 2018. Disponível em <https://issuu.com/cica/docs/uma_pitada_de_biodiversidade>.

ROA, F.; GUERRA, M. Distribution of 45S rDNA sites in chromosomes of plants: Structural and evolutionary implications. **BMC Evolutionary Biology**, v. 12, p. 225, 2012.

ROCHA, G. S.; PEREIRA, L. P. L.; CARNEIRO, P. C. S.; PAULA-JÚNIOR, T. J.; CARNEIRO, J. E. S. Common bean breeding for resistance to anthracnose and angular leaf spot assisted by SCAR molecular markers. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 12, p. 34-42, 2012.

SCHIEMANN, J.; HARTUNG, F. EU perspectives on new plant-breeding techniques. In: EAGLESHAM, H; HARDY, R. W. F (Eds). **NABC Report 26: New DNA-editing Approaches: Methods, Applications and Policy for Agriculture**, p. 201–210. Ithaca, Boyce Thompson Institute, 2015.

SANTOS, A. R. B.; SIMEÃO, M.; BARROS, P. S.; CAVALCANTE, G. R. S.; CARVALHO, E. M. S. Seleção de subamostras de feijão-fava para resistência à Antracnose. **Brazilian Journal of Biosystems Engineering**, v. 9, n. 3, p. 268-278, 2015.

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

SANTOS, J. O.; ARAÚJO, A. S. F.; GOMES, R. L. F.; LOPES, A. C. A.; FIGUEIREDO, M. V. B. Ontogenia da nodulação em feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.). **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 4, n. 4, p. 426–429, 2009.

SCHLUETER, J. A.; GOICOECHEA, J. L.; COLLURA, K. BAC-end sequence analysis and a draft physical map of the common bean (*Phaseolus vulgaris* L. L.) genome. **Tropical Plant Biology**, v. 1, p. 40– 48, 2008.

SCHUBERT, I.; LYSAK, M. A. Interpretation of karyotype evolution should consider chromosome structural constraints. **Trends in Genetics**, v. 27, p. 207–216, 2011.

SCHWEIZER, D.; AMBROS, P. F. Chromosome banding: stain combinations for specific regions. **Chromosome Analysis Protocols**, p. 97-112, 1994.

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, p. 130–134, 2015.

SERRANO-SERRANO, M. L.; ANDUEZA-NOH, R. H.; MARTÍNEZ-CASTILLO, J.; DEBOUCK, D. G.; CHACÓN, M. I. Evolution and domestication of lima bean

(*Phaseolus lunatus* L.) in Mexico: evidence from ribosomal DNA. **Crop Science**, v. 52, p. 1698-1712, 2012.

SERRANO-SERRANO, M. L.; HERNANDEZ-TORRES J.; CASTILLO-VILLAMIZAR G.; DEBOUCK, D. G.; CHACÓN, M. I. Gene pools in wild lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) from the Americas: evidences for an Andean origin and past migrations. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 54, p. 76–87, 2010.

SHAMURAILATPAM, A.; MADHAVAN, L.; YADAV, S. R.; BHAT, K. V.; RAO, S. R. Heterochromatin characterization through differential fluorophore binding pattern in some species of *Vigna* Savi. **Protoplasma**, v. 252, p. 629–635, 2015.

SHARMA, T.; BARDHAN, A.; BAHADUR, M. Reduced meiotic fitness in hybrids with heterozygosity for heterochromatin in the speciating *Mus terricolor* complex. **Journal of Biosciences**, v. 28, n. 2, p. 189–198, 2003.

SILVA, A. J.; CANTERI, M. G.; SILVA, A. L. Haste verde e retenção foliar na cultura da soja. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.39, n. 3, p. 151-156, 2013.

SILVA, J. A.; OLIVEIRA, M. G. O.; SOUZA, L. T.; MICHEREFF, S. J.; ASSUNÇÃO, I. P.; LIMA, G. S. A. Reação de genótipos de fava (*Phaseolus lunatus* L.) à podridão do colo causada por *Sclerotium rolfsii*. In.: JORNADA DE ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO – JEPEX– UFRPE, 10., 2010, Recife. **Resumos...** Universidade Federal Rural do Pernambuco, 2010.

SILVA, R. N. O. **Diversidade genética em feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.) por marcadores morfoagronômicos e moleculares**. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento). Universidade Federal do Piauí, Teresina, 175p., 2011a.

SILVA, S. C.; MARTINS M. I. G.; SANTOS, R. C. Karyological features and banding patterns in *Arachis* species belonging to the *Heteranthae* section. **Plant Systematics and Evolution**, v. 285, p. 201–207, 2010.

SILVA, R. N. O.; BURLE, M.L.; PÁDUA, J. G.; LOPES, A. C. A.; GOMES, R. L. F.; MARTÍNEZ-CASTILLO, J. Phenotypic diversity in lima bean landraces cultivated in Brazil, using the Ward-MLM strategy. **Chilean Journal of Agricultural Research**, v. 77, n. 1, 2017.

SILVA, V. **Caracterização morfoagronômica e citogenética e raças locais e feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.)**. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento). Universidade Federal do Piauí, Teresina, 62p., 2011b.

SILVA, V.; GOMES, R. L. F.; LOPES, A. C. A.; DIAS, C. T. S.; SILVA, R. N. O. Genetic diversity and promising crosses indication in lima bean (*Phaseolus lunatus*) accessions. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 36, p. 683-692, 2015.

SINGH, R. J. **Plant Cytogenetics**. 3rd ed. CRC Press (Taylor & Francis Group) Boca Raton, Florida, 2017.

SINGH, S. P.; TERÁN, H.; MUÑOZ, C. G.; TAKEGAMI, J. C. Two cycles of recurrent selection for seed yield in common bean. **Crop Science**, v. 39, p. 391-397, 1999.

SINGH, S.; SIDHU, J. S.; HUANG, N.; VIKAL, Y.; LI, Z.; BRAR, D. S.; DHALIWAL, H. S.; KHUSH, G. S. Pyramiding three bacterial blight resistance genes (*xa5*, *xa13* and *Xa21*) using marker-assisted selection into indica rice cultivar PR106. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 102, p. 1011-1015, 2001.

- SINHA, S. S. N.; ROY, H. Cytological Studies in the Genus *Phaseolus* I: Mitotic analysis in fourteen species. **Cytologia**, v. 44, p. 191-199, 1979.
- SLIPPERS, B. BOISSIN, E.; PHILIPS, A. J. L.; GROENEWALD, J. Z.; LOMBARD, L.; WINGFIELD, M. J.; POSTMA, A.; BURGESS, T.; CROUS, P. W. Phylogenetic lineages in the Botryosphaerales: a systematic and evolutionary framework. **Studies in Mycology**, v. 76, p. 31–49, 2013.
- SOARES-SCOTT, M. D. **Caracterização citogenética de algumas espécies e híbridos interespecíficos de Passiflora**. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas). Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 90p., 1998.
- SOUSA, A. M. C. B.; SOARES, J. W. M.; SILVA, D. M. A.; MONTEIRO, H. N. B.; COSTA, M. F.; GOMES, R. L. F.; LOPES, A. C. A. Determination of ideal conditions to do artificial crosses in *Phaseolus lunatus* L.. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, v. 58, p. 95-96, 2015.
- SOUSA, E. S. **Novos agentes etiológicos de doenças do feijão-fava no Brasil**. 2016. Dissertação (Mestrado em Agronomia). Universidade Federal do Piauí, Teresina, 2016.
- SOUSA, E. S.; SILVA, J. R. A.; ASSUNÇÃO, I. P.; MELO, M. P.; FEIJÓ, F. M.; MATOS, K. S.; LIMA, G. S. A.; BESERRA-JR, J. E. A. Colletotrichum species causing anthracnose on lima bean in Brazil. **Tropical Plant Pathology**, v. 43, p. 78–84, 2018.
- SOUZA, M. G. C.; BENKO-ISEPPON, A. M. Cytogenetics and chromosome banding patterns in Caesalpinioideae and Papilionioideae species of Pará, Amazonas, Brazil. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 144, p. 181–191, 2004.
- SOUZA, T. L. P. O.; FALEIRO, F. G.; DESSAUNE, S. N.; PAULA-JUNIOR, T. J.; MOREIRA, M. A.; BARROS, E. G. Breeding for common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) rust resistance in Brazil. **Tropical Plant Pathology**, v. 38, n. 5, p. 361-374, 2013.
- SOUZA, T. L. P. O.; RAGAGNIN, V. A.; SANGLARD, D.; MOREIRA, M. A.; BARROS, E. G. Identification of races of selected isolates of *Uromyces appendiculatus* from Minas Gerais (Brazil) based on the new international classification system. **Fitopatologia Brasileira**, v. 32, p. 104-109, 2007.
- SOUZA, T. L. P. O.; SANGLARD, D.; RAGAGNIN, V. A.; ALZATE-MARIN, A. L.; MOREIRA, M. A.; BARROS, E. G. Development of “carioca type” common bean lines resistant to rust with the aid of molecular markers. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, v. 48, p. 138-139, 2005.
- STAVELY, J. R.; PASTOR-CORRALES, M. A. In: SCHWARTZ, H. F.; PASTOR-CORRALES, M. A. (Eds.) **Bean Production Problems in the Tropics**. 2. ed. Cali Colombia. Centro Internacional de Agricultura Tropical Press, p. 159-194, 1989.
- STOINOVA, J. Meiotic stability and characteristics of rye genome and productivity of Bulgarian hexaploid triticales lines. **Bulgarian Journal of Agricultural Science**, v. 12, p. 13-18, 2006.
- SYBENGA, J. **Cytogenetics in Plant Breeding**. Monographs on Theoretical and Applied Genetics 17. Springer-Verlag, Berlin, 1992.

- TALHINHAS, P.; NEVES-MARTINS, J.; OLIVEIRA, H. Avaliação da resistência à antracnose em germoplasma de *Lupinus* spp. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 39, n. 4, p. 550-570, 2016.
- TOENNIESSEN, G. H.; O'TOOLE, J. C.; Devries, J. Advances in plant biotechnology and its adoption in developing countries. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 6, p. 191-198, 2003.
- USDA-NASS (United States Department of Agriculture-National Agricultural Statistics Service Information). Principal processing vegetables, area planted, harvested, production and value by Crop - United States: 2013-2015 (Domestic Units). **Vegetables 2015 Summary**, p. 56-58, 2016.
- VARSNEY, R.K. Exciting journey of 10 years from genomes to fields and markets: some success stories of genomics-assisted breeding in chickpea, pigeonpea and groundnut. **Plant Science**, v. 242, p. 98–107, 2016.
- VAVILOV, N. I. Centers of origin of cultivated plants. **Bulletin of Applied Botany, of Genetics and Plant Breeding**, v. 16, n. 2, 1926.
- VIGIL, C. C.; GUZMÁN, J. S. **Manual del Cultivo del Pallar**. Fondo Empleo y CEDEP-Perú. Ica, Perú, 14 p., 2008.
- VOTTELERD, P. A. V. **Caracterización de la heterocromatina constitutiva en siete especies de Aloe L. (Aloaceae)**. Monografía (Graduação em Biologia). Universidad De Oriente, Cumaná, 101p, 2009.
- WANG, L.; BEISSINGER, T. M.; LORANT, A.; ROSS-IBARRA, C.; ROSS-IBARRA, J.; HUFFORD, M. The interplay of demography and selection during maize domestication and expansion. **Genome Biology**, v. 18, p. 215, 2017.
- XU, Y.; LI, P.; ZOU, C.; LU, Y.; XIE, C.; ZHANG, S.; PRASANNA, B.M. Enhancing genetic gain in the molecular breeding era. **Journal of Experimental Botany**, v. 68, p. 2641–2666, 2017.
- YAN, C.; SONG, Y.; GU, M.; HE, S. Genetic stability analyses in inbred lines derived from distant hybrid parthenocarpy with giemsa C-banding markers. **Acta Genetica Sinica**, v. 24, n. 2, p. 170-177, 1997.
- YARNELL, S. H. Cytogenetics of the vegetable crops IV. **Legumes, The Botanical Review**, v. 31, n. 3, 1965.
- ZHENG, C. Study on heterochromatin in sugar cane. **Chinese Journal of Tropical Crops**, 1994.
- ZIMMERMANN, M. J. O.; TEIXEIRA, M. G. Origem e evolução. In: ARAÚJO, R. S.; RAVA, C. A.; STONE, L. F.; ZIMMERMANN, M. J. O. **Cultura do feijoeiro comum no Brasil**. Piracicaba, POTAFOS, p. 57-70, 1996.
- ZIZUMBO-VILLARREAL, D.; COLUNGA, G. P. Origin of agriculture and plant domestication in West Mesoamerica. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 57, p. 813–825, 2010.

ANEXO

Anexo A – Relação dos 24 acessos de feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.) com características agrônômicas superiores provenientes do Banco Ativo de Germoplasma de *Phaseolus*. NDF = Número de dias para floração. NDM = Número de dias para maturação. NVP = Número de vagens por planta. CV = Comprimento da vagem. LV = Largura da vagem. NLV = Número de lócus por vagem. NSV = Número de sementes por vagem. P100 = Peso de cem sementes. CG = Comprimento do grão. LG = Largura do grão. EG = Espessura do grão. PRODP = Produtividade por planta.

Acessos	NDF	NDM	NVP	CV	LV	NLV	NSV	P100	CG	LG	EG	PRODP	Referência
220	91,80	152,87	16,05	4,94	1,32	2,55	2,80	34,56	9,24	7,41	5,98	-	Silva (2011b)
222	94,02	149,77	12,25	6,08	1,42	-	2,95	-	-	-	-	-	Silva (2011b)
228	92,85	157,07	7,30	5,63	1,40	-	2,95	-	-	-	-	-	Silva (2011b)
229	54	-	-	6,01	1,49	3,20	3,17	40,19	11,27	8,43	6,43	-	Pires (2014)
243	94,47	157,62	14,26	6,15	1,37	-	2,82	-	-	-	-	-	Silva (2011b)
251	91,12	155,85	11,31	5,94	1,22	-	2,62	-	-	-	-	-	Silva (2011b)
674	76,50	127,00	236,5	8,26	1,92	2,65	2,65	71,98	-	-	7,38	418,05	Assunção-Filho (2012)
728	51,55	100,71	-	5,44	1,58	2,07	1,76	20,07	11,00	7,66	4,44	-	Carmo (2011)
968	39,5	-	-	5,83	1,22	2,70	2,45	-	11,39	7,55	5,2	-	Silva (2011a)
1176	151	-	-	5,95	1,27	3,05	3,05	-	11,23	9,02	5,40	-	Silva (2011a)
1183	117,5	-	-	7,17	1,67	2,00	2,00	-	<u>20,20</u>	<u>13,2</u>	<u>5,11</u>	-	Silva (2011a)
1186	100	-	-	8,47	1,72	2,35	2,25	-	<u>17,24</u>	<u>12,41</u>	<u>5,30</u>	-	Silva (2011a)
1188	106,5	-	-	5,11	1,33	3,00	3,00	-	9,28	8,09	6,14	-	Silva (2011a)
1189	107	-	-	6,07	1,26	3,05	3,05	-	9,97	7,56	5,65	-	Silva (2011a)
1200	108	-	-	6,16	1,18	3,25	3,25	-	10,28	8,14	6,12	-	Silva (2011a)
1205	47,5	-	-	6,11	1,24	3,00	3,00	-	11,23	7,98	6,31	-	Silva (2011a)
1206	42	-	-	5,05	0,97	2,00	2,00	-	14,27	8,13	6,42	-	Silva (2011a)
1209	91	-	-	5,97	1,41	3,10	3,05	-	11,04	8,75	5,71	-	Silva (2011a)
1213	48	-	-	8,57	1,84	3,30	3,30	-	15,72	11,7	4,78	-	Silva (2011a)
1214	111	-	-	6,41	1,36	3,10	3,10	-	11,19	8,92	6,84	-	Silva (2011a)

Fonte: Banco de Dissertações do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento da UFPI e Banco de Dissertações do Programa de Pós-Graduação em Agronomia da UFPI.

Legenda: Destacados em negrito os melhores resultados e sublinhados os melhores resultados que contribuem para o grande tamanho de semente dos acessos UFPI 1183 e UFPI 1186 (CG, LG e EG).