



RAFAEL DA COSTA ALMEIDA

**ESTABELECIMENTO DA COLEÇÃO NUCLEAR DE FEIJÃO-
FAVA DO BANCO DE GERMOPLASMA DE *Phaseolus* DA
UFPI**

TERESINA – PI

2020

RAFAEL DA COSTA ALMEIDA

**ESTABELECIMENTO DA COLEÇÃO NUCLEAR DE FEIJÃO-FAVA DO BANCO DE
GERMOPLASMA DE *Phaseolus* DA UFPI**

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

Orientadora

Profa. Dra. Regina Lucia Ferreira Gomes

Coorientadores

Profa. Dra. Ângela Celis de Almeida Lopes

Prof. Dr. Leonardo Castelo Branco Carvalho

TERESINA – PI

2020

FICHA CATALOGRÁFICA
Universidade Federal do Piauí
Biblioteca Setorial do Centro de Ciências Agrárias
Serviço de Processos Técnicos

A447e Almeida, Rafael da Costa.
Estabelecimento da coleção nuclear de feijão-fava do Banco de Germoplasma de *Phaseolus* da UFPI / Rafael da Costa Almeida. -- 2020.
101 f. : il.

Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Piauí, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Agronomia - Agricultura Tropical, Teresina, 2020.

“Orientadora: Prof.^a Dr.^a Regina Lucia Ferreira Gomes.”

“Coorientadores: Prof.^a Dr.^a Ângela Celis de Almeida Lopes, Prof. Dr. Leonardo Castelo Branco Carvalho.”

1. *Phaseolus lunatus* – Caracterização de germoplasma. 2. Feijão-fava - Recursos genéticos. 3. Métodos multivariados. 4. Inteligência computacional. I. Gomes, Regina Lucia Ferreira. II. Lopes, Ângela Celis de Almeida. III. Carvalho, Leonardo Castelo Branco. IV. Título.

CDD 635.651

RAFAEL DA COSTA ALMEIDA**Estabelecimento da coleção nuclear de feijão-fava do Banco de Germoplasma
de *Phaseolus* da UFPI**

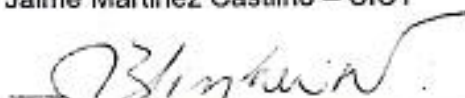
Tese apresentada à Universidade Federal do Piauí, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia-Agricultura Tropical, para obtenção do título de Doutor em Ciências.

Aprovada em 29 de maio de 2020.

Comissão Julgadora:



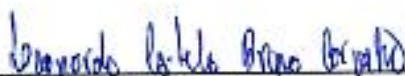
Prof. Dr. Jaime Martinez Castilho – CICY



Prof. Dr. José Baldin Pinheiro – USP/ESALQ



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



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



Profa. Dra. Ângela Celis de Almeida Lopes – CCA/UFPI
(Coorientadora)



Profa. Dra. Regina Lucia Ferreira Gomes – CCA/UFPI
(Orientadora)

A Deus, razão da minha existência, guia dos meus passos por onde for.

Ofereço.

Aos meus pais, Nelson e Hilda, por tudo o que fizeram pela minha formação, pelo amor incondicional, apoio e incentivo. A minha irmã, Raquel, pelo ombro amigo de sempre. A minha esposa Luana, que esteve presente em todos os momentos, me ajudando sempre que precisei. À minha família, meu lar e porto seguro. Amo todos vocês. Aos meus amigos por todo o apoio e companheirismo.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela benção da vida, por ter me dado forças para seguir mesmo quando parecia impossível alcançar essa conquista e por colocar pessoas excepcionais no meu caminho, que me ajudaram e ainda ajudam;

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

Ao Instituto Federal do Piauí (IFPI) pelo apoio concedido nessa etapa.

À professora, pesquisadora, conselheira, amiga e orientadora, Regina Lucia Ferreira Gomes, pelo tempo, preocupação, apoio, dedicação, exemplo profissional e ensinamentos destinados;

À professora, orientadora, conselheira, chefe escoteira, Ângela Celis de Almeida Lopes, pela compreensão, seriedade, atenção e flexibilidade;

Ao professor Leonardo Castelo Branco Carvalho, pela orientação, tempo, paciência e ensinamentos estatísticos no software R;

Aos professores José Baldin Pinheiro e Maria Imaculada Zucchi, pelo apoio e ensinamentos durante minha pesquisa em São Paulo junto ao Laboratório de Diversidade Genética e Melhoramento, Universidade de São Paulo/Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz (USP/ESALQ).

Aos professores e colaboradores do PPGA-AT, pelos valiosos ensinamentos transmitidos e colaboração na minha formação;

À amiga Josilane Souza da Penha pelo apoio, paciência e ensinamentos.

Aos meus amigos do Laboratório de Recursos Genéticos e Melhoramento de Plantas (RGMP), que na verdade é uma grande família, foi um porto seguro. Obrigado pelos bons momentos de estudo, descontração, alegria, união, apoio e amizade;

Aos funcionários do Departamento de Fitotecnia, pelo auxílio nas tarefas diárias, sempre proporcionando momentos de descontração e alegria;

Ao Dr. Alessandro Alves Pereira pelo tempo, paciência e ensinamentos na parte molecular.

A todos os alunos da pós-graduação os quais tive o prazer de conviver, pelo apoio e troca de experiências;

Aos meus pais, Nelson de Almeida Costa Filho e Hilda Maria da Costa Pinto Almeida, por acreditarem e sem medir esforços me apoiarem em cada passo. A minha irmã, Raquel da Costa Almeida, pelo apoio e ombro amigo;

À minha esposa, Luana Braz Costa, pelo amor, companheirismo, paciência, compreensão, incentivo e auxílio prestado em todos os momentos deste trabalho;

A todos os familiares e amigos pelas palavras de incentivo, carinho e compreensão nos dias difíceis;

A todas as pessoas que de algum modo contribuíram para a realização deste trabalho, meus sinceros agradecimentos.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	x
LISTA DE FIGURAS	xii
RESUMO GERAL	xv
ABSTRACT	xvi
1 INTRODUÇÃO GERAL	17
2 REFERENCIAL TEÓRICO	20
2.1 O objeto de estudo, <i>Phaseolus lunatus</i> L.	20
2.1.1 Aspectos gerais.....	20
2.1.2 Origem e domesticação	22
2.1.3 Importância socioeconômica	23
2.1.4 Conservação do germoplasma.....	27
2.2 Caracterização de germoplasma.....	28
2.2.1 Caracterização morfoagronômica.....	29
2.2.2 Caracterização molecular	30
2.2.2.1 Marcadores moleculares microssatélites	32
2.3 Coleção nuclear	34
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	39
CAPÍTULO I - Fenotipagem em feijão-fava de diversas origens	48
Resumo	48
1. Introdução	48
2. Material e Métodos.....	50
3. Resultados e Discussão	53
4. Conclusões	65
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	66
CAPÍTULO II - Árvore de decisão como ferramenta na classificação de acessos de feijão-fava	68
Resumo	68
1. Introdução	68
2. Material e Métodos.....	70
3. Resultados e Discussão	73
4. Conclusões	79
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	80

CAPÍTULO III – Estabelecimento de coleção nuclear em feijão-fava e validação baseada em marcadores moleculares.....	82
Resumo	82
1. Introdução	82
2. Material e Métodos.....	84
Germoplasma	84
Desenvolvimento da coleção nuclear para <i>Phaseolus lunatus</i>	84
Avaliação das coleções nucleares candidatas	85
Comparação das coleções nucleares com base em dados moleculares.....	86
3. Resultados e Discussão.....	87
3.1 Validação da representatividade das estratégias para formar a coleção nuclear.....	87
3.2 Comparação entre as coleções nucleares com base em dados moleculares.....	90
4. Conclusões	96
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	97
3 CONSIDERAÇÕES GERAIS	100

LISTA DE TABELAS

Capítulo I

- Tabela 1 - Os 55 acessos de feijão-fava, provenientes do Banco Ativo de Germoplasma de *Phaseolus*, da Universidade Federal do Piauí (BGP - UFPI), caracterizados em Teresina, PI, Brasil, 2018. (Continua)..... 51
- Tabela 2 - Componentes principais, autovalores, porcentagem da variância explicada e proporção acumulada (%) para 17 caracteres quantitativos avaliados em 55 acessos de feijão-fava, provenientes do Banco Ativo de Germoplasma de *Phaseolus*, da Universidade Federal do Piauí (BGP - UFPI), caracterizados em Teresina, PI, Brasil, 2018..... 56
- Tabela 3 - Conjunto de autovetores associados aos caracteres quantitativos dos dois primeiros componentes principais, avaliados em 55 acessos de feijão-fava, provenientes do BGP - UFPI, Teresina, PI, Brasil, 2018..... 57

Capítulo II

- Tabela 1 - Relação dos 60 acessos de feijão-fava, provenientes do Banco Ativo de Germoplasma de *Phaseolus*, da Universidade Federal do Piauí (BGP - UFPI), caracterizados em Teresina, PI, Brasil, 2018. (Continua) 70
- Tabela 2 - Estimativas dos componentes principais, autovalores, porcentagem da variância explicada e proporção acumulada (%) para oito descritores quantitativos avaliados em 60 acessos de feijão-fava, provenientes do Banco Ativo de Germoplasma de *Phaseolus*, da Universidade Federal do Piauí (BGP - UFPI), caracterizados em Teresina, PI, Brasil, 2018..... 73

Capítulo III

- Tabela 1 - Quantidade de acessos selecionados em cada grupo por meio do método de Tocher invertido..... 87
- Tabela 2 - Amplitude mínima (Min) e máxima (Max), média, variância (Var), curtose (cur) e simetria (sim) dos oito caracteres quantitativos avaliados na coleção inteira (CI) do Banco Ativo de Germoplasma de *Phaseolus*, da Universidade Federal do Piauí (BGP - UFPI) e as duas coleções nucleares proporcional (P) e logarítmica (L)..... 89
- Tabela 3 - Índice de Shannon para os caracteres qualitativos¹ da coleção inteira e das duas coleções nucleares..... 90

- Tabela 4 - Estimativas da diversidade genética para os acessos que não coincidem nas CNs proporcional (P) e logarítmica (L), com base em 13 marcadores SSR. Número de indivíduos (N), número médio de alelos (N_a), heterozigosidade observada (H_o) e esperada (H_e) e coeficiente de endogamia (F)..... 91
- Tabela 5 - Estimativas da diversidade genética para os acessos que não coincidem nas CNs proporcional (P) e logarítmica (L), com base em 13 marcadores SSR, considerando a porcentagem de *locos* polimórficos (%P), número médio de alelos (N_a), número de alelos exclusivos do grupo (AP), heterozigosidade observada (H_o) e esperada (H_e) e coeficiente de endogamia (F)..... 92
- Tabela 6 - Análise de variância molecular (AMOVA) considerando os acessos das CNs proporcional (P) e logarítmica (L)..... 94

LISTA DE FIGURAS

Referencial Teórico

- Figura 1. Feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.). a) folhas trifoliadas; b) inflorescência; c) flor; d) vagens..... 21
- Figura 2. Sementes de feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.). a) Variação fenotípica; b) Forma da semente (reniforme, redonda ou romboide); c) Variedades botânicas: *P. lunatus* var. *silvester* e var. *lunatus*..... 22
- Figura 3. Produção nacional de feijão-fava e área colhida entre os anos de 2008 a 2017. Figura adaptada do Sistema IBGE de Recuperação Automática – SIDRA, 2019..... 24
- Figura 4. Produção de feijão-fava dos cinco estados mais produtores entre os anos de 2013 a 2017. Figura adaptada do Sistema IBGE de Recuperação Automática – SIDRA..... 25
- Figura 5. Rendimento médio da produção de feijão-fava nos estados brasileiros no ano de 2017. Figura adaptada do Sistema IBGE de Recuperação Automática – SIDRA..... 26
- Figura 6. Diagrama demonstrando simplificadaamente as etapas da seleção de uma coleção nuclear. Adaptado e modificado de Brown e Spillane (1999) e Yanfang et al. (2019) 35

Capítulo I

- Figura 1. Coeficientes de correlação de Pearson entre 17 caracteres quantitativos¹ em acessos de feijão-fava. Os coeficientes de correlação com valores absolutos superiores a 0,27 e 0,34 foram significativos ao nível estatístico de probabilidade de 5 e 1 por cento, respectivamente..... 54
- Figura 2. Dispersão gráfica com base nos dois primeiros componentes principais avaliados em 55 acessos de feijão-fava, provenientes do BGP - UFPI, Teresina, PI, Brasil, 2018..... 58
- Figura 3. Dendrograma obtido a partir da análise combinada de descritores quantitativos e qualitativos em 55 acessos de feijão-fava, por meio da distância generalizada de Gower e do método de agrupamento UPGMA. Corte a 38,1%, formando cinco grupos, e coeficiente de correlação cofenética (r) = 0,74. Os triângulos identificam acessos silvestres e os quadrados cultivados, as cores os grupos: Andino (vermelho), Mesoamericano (azul), Brasil (verde) e outras procedências (amarelo) e as bandeiras as procedências dos acessos..... 60

Figura 4.	Agrupamento baseado na análise discriminante sob componentes principais, que mostra a consistência da formação dos cinco grupos no dendrograma UPGMA pela distância generalizada de Gower.....	63
Figura 5.	Probabilidade de um acesso pertencer ao grupo ao qual foi associado no dendrograma UPGMA, adotando a distância generalizada de Gower.....	64

Capítulo II

Figura 1.	Representação esquemática da aplicação da árvore de decisão na classificação de 60 acessos de feijão-fava.....	73
Figura 2.	Gráfico de dispersão dos 60 acessos de feijão-fava provenientes do BGP/UFPI na análise discriminante sob componentes principais (DAPC). O gráfico representa os acessos como formas geométricas e os grupos como elipses....	74
Figura 3.	Probabilidade de um acesso pertencer ao grupo ao qual foi associado pelo país de procedência e estado biológico, as cores representam os quatro grupos.....	75
Figura 4.	Árvore de decisão (AD) baseada no índice de Gini (BREIMAN et al., 1984) para o conjunto de dados de treinamento dos 60 acessos de feijão-fava provenientes do BGP/UFPI. Os nós folhas podem assumir os seguintes rótulos: AC: Andino cultivado; AS: Andino silvestre; MC: Mesoamericano cultivado; MS: Mesoamericano silvestre. Siglas dos descritores: Área da semente (ARS, mm ²); Peso da semente (P100S, g); espessura da semente (ES, mm)	77
Figura 5.	Importância das variáveis fenotípicas da semente utilizadas na árvore de decisão (AD) para a classificação de um novo acesso de feijão-fava.....	78

Capítulo III

Figura 1.	Esquema dos procedimentos para o estabelecimento da coleção nuclear de feijão-fava.....	85
Figura 2.	Gráfico da análise das coordenadas principais (PCoA), mostrando a dispersão dos acessos que não coincidem da CN proporcional (losangos azuis) e da CN logarítmica (quadrados laranjas)	93
Figura 3.	Dendrograma UPGMA construído com as distâncias de Rogers (1972), ilustrando o agrupamento dos acessos que não coincidem na CN proporcional (losangos azuis) e na CN logarítmica (quadrados laranjas), com base na variação de 13 <i>locos</i> microssatélites.....	94

- Figura 4. Representação gráfica do número ótimo de grupos (K) obtido pelo STRUCTURE inferida usando o critério ΔK de Evanno et al. (2005). A análise foi baseada em dados obtidos dos 13 *locos* SSR utilizados para avaliar a diversidade genética dos acessos que não coincidem nas CNs proporcional (P) e logarítmica (L).... 95
- Figura 5. Gráfico de barras em $K = 2$ e $K = 5$ da análise bayesiana obtida pelo STRUCTURE, mostrando coeficientes de associação para os acessos que não coincidem nas CNs proporcional (P) e logarítmica (L). Os acessos são ordenados de acordo com a CN a que pertence. Cores diferentes representam grupos genéticos distintos..... 96

RESUMO GERAL

O feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.) é uma importante espécie da família Fabaceae, que possui ampla distribuição mundial. Existe grande preocupação com a conservação dos recursos genéticos da espécie, o que mostra a importância dos Bancos de Germoplasma. As coleções de germoplasma *ex situ* aumentaram consideravelmente em número e tamanho, entretanto, não foi acompanhado pela intensidade de uso equivalente, o que dificulta atividades de caracterização, avaliação, utilização e manutenção do germoplasma conservado. Esse fenômeno tem sido observado no Banco Ativo de Germoplasma de *Phaseolus* da Universidade Federal do Piauí (BGP - UFPI), que possui 1345 acessos, até fevereiro de 2020, provenientes de vários estados do Brasil e de outros países. Assim, objetivou-se estabelecer uma coleção nuclear (CN) dos acessos de feijão-fava do BGP - UFPI para estimular o seu uso, além de caracterizar a diversidade genética dos acessos coletados no Brasil e em diversos países, mediante o uso de técnicas multivariadas, com base em caracteres morfoagronômicos. No estabelecimento da CN foram utilizadas duas estratégias de amostragem: proporcional (P) e logarítmica (L), baseado nos caracteres fenotípicos, e a comparação entre elas foi feita por meio de microssatélites nucleares (ncSSRs). Na caracterização da diversidade foram realizadas análises de correlações fenotípicas, análise de componentes principais, agrupamento e análise discriminante. Para testar o uso da árvore de decisão (AD) na classificação dos acessos de feijão-fava fez-se a comparação entre duas abordagens, estatística convencional e a inteligência computacional. A coleção nuclear logarítmica mostrou-se mais adequada para fins de conservação, sendo composta por 79 acessos. Constatou-se grande variabilidade genética entre os acessos de feijão-fava do BGP - UFPI, coletados nos diversos países. Os acessos que têm como país de origem o Brasil apresentaram características típicas do *pool* genético andino e mesoamericano. Indicando o Brasil como um provável centro de diversidade da cultura. Classificadores baseados em inteligência artificial se constituem em alternativas importantes em estudos que visam a discriminação de populações, logo, o uso da árvore de decisão na classificação do feijão-fava nos centros de domesticação e estado biológico da espécie se mostrou eficiente. Estes resultados serão importantes para a utilização e manutenção dos acessos conservados no BGP - UFPI, além de servir de base para programas de melhoramento genético da cultura e instigar o uso da inteligência computacional na espécie, já que ainda são incipientes.

Palavras-chave: *Phaseolus lunatus*, caracterização de germoplasma, recursos genéticos, métodos multivariados, inteligência computacional.

ABSTRACT

Lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) is an important species of the Fabaceae family, which has a wide worldwide distribution. There is a great concern with the conservation of the genetic resources of the species, which shows the importance of germplasm banks. The collections of ex situ germplasm increased considerably in number and size, however, it was not accompanied by the intensity of equivalent use, which makes it difficult to characterize, evaluate, use and maintain of conserved germplasm. This phenomenon has been observed in the *Phaseolus* Active Germplasm Bank of the Universidade Federal do Piauí (PBG - UFPI), which has 1345 accessions, until February 2020, coming from several states of Brazil and other countries. Thus, the objective was to establish a core collection (CC) of the accessions of lima bean from PBG - UFPI to stimulate their use, in addition to characterizing the genetic diversity of the accessions collected in Brazil and in several countries, through the use of multivariate techniques, based on morphoagronomic characters. In the establishment of the CC two sampling strategies were used: proportional (P) and logarithmic (L), based on phenotypic characters, while the comparison between them was made by nuclear microsatellites (ncSSRs). In the characterization of diversity, analyzes of phenotypic correlation, principal component analysis, clustering and discriminant analysis were performed. To test the use of the decision tree (DT) in the classification of lima bean accessions, a comparison was made between two approaches, conventional statistics and computational intelligence. The logarithmic core collection proved to be more suitable for conservation purposes, being composed of 79 accessions. Great genetic variability was found between the accessions of lima bean from PBG - UFPI, collected in different countries. The accessions whose country of origin is Brazil had typical characteristics of the Andean and Mesoamerican gene pool. Indicating Brazil as a probable center of cultural diversity. Classifiers based on artificial intelligence are important alternatives in studies aimed at the discrimination of populations, therefore, the use of the decision tree in the classification of lima bean in the domestication centers and biological status of the species proved to be efficient. These results will be important for the use and maintenance of accessions conserved in PBG - UFPI, in addition to serving as a basis for crop breeding and genetic programs and instigating the use of computational intelligence in the species, since they are still incipient.

Key words: *Phaseolus lunatus*, germplasm characterization, genetic resources, multivariate methods, computational intelligence.

1 INTRODUÇÃO GERAL

O feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.) é a segunda leguminosa de maior importância deste gênero botânico (MAQUET; VEKEMANS; BAUDOIN, 1999), recebe várias denominações, em função da região onde é cultivada ou devido a forma de utilização na alimentação, entre elas: fava-belém, feijão-espadinho, feijão-de-lima, fava-de-lima ou simplesmente fava (GRIN, 2018).

A importância econômica e social do feijão-fava deve-se principalmente por ser uma fonte de alimento rico em proteínas para a população (AZEVEDO; FRANCO; ARAÚJO, 2003; CHEL-GUERRERO et al., 2012; EZEAGU; IBEGBU, 2010), sendo consumido pelo homem sob a forma de grãos verdes e secos, vagens verdes e folhas. Além disso, esta espécie também pode ser utilizada na alimentação animal (VIEIRA, 1992). No Brasil, o feijão-fava é preferencialmente cultivado na região Nordeste, onde é amplamente consumido e, portanto, possui maior importância econômica (AZEVEDO; FRANCO; ARAÚJO, 2003; SILVA et al., 2015).

A variabilidade genética no feijão-fava, deve-se muito ao processo de dispersão pelo mundo que expôs a cultura a adaptação aos diferentes ambientes. A grande diversidade genética que existe na natureza e o seu potencial para utilização em programas de melhoramento genético, trouxeram à tona a preocupação para conservação dos Recursos Genéticos Vegetais. Estes podem ser conservados de duas formas: *in situ* e *ex situ*. Na *in situ*, a ação de conservar a variação genética das espécies ocorre no ambiente natural em áreas definidas, protegidas ou sob exploração; a conservação *ex situ*, acontece fora do habitat natural. Uma das maneiras utilizadas na conservação *ex situ* é por meio dos Bancos Ativos de Germoplasma (BAGs), local onde se conserva o material genético de interesse (SANTONIERI; BUSTAMANTE, 2016).

O Banco Ativo de Germoplasma de *Phaseolus* da Universidade Federal do Piauí (BGP - UFPI) foi estabelecido em 2003, com coletas de variedades locais em comunidades agrícolas, feiras e mercados, tendo sido incorporados inicialmente 211 acessos (LOPES et al., 2010). O BGP - UFPI possui 1345 acessos, até fevereiro de 2020, provenientes de vários estados do Brasil e de outros países. O aumento na quantidade de acessos se deve em grande parte

aos esforços despendidos na realização de coletas e intercâmbios com instituições parceiras.

As coleções de germoplasma *ex situ* aumentaram enormemente em número e tamanho nas últimas três a quatro décadas, como resultado dos esforços globais para conservar os recursos fitogenéticos para a alimentação e agricultura. Entretanto, o crescimento dessas coleções não foi acompanhado por uma intensidade de uso equivalente, gerando lacunas entre a disponibilidade do germoplasma e o uso real desses materiais. As grandes dimensões de muitas dessas coleções, individualmente ou coletivamente, para uma dada espécie complicam a caracterização, avaliação, utilização e manutenção do germoplasma conservado (ODONG et al., 2013). Uma alternativa para aumentar o uso desses materiais genéticos é o estabelecimento de coleções nucleares (CNs).

Uma coleção nuclear (CN) pode ser definida por um grupo limitado de acessos derivados de uma coleção de germoplasma, escolhido para representar o espectro genético da coleção inteira (CI). Essa abordagem tem como objetivo aumentar a eficiência de caracterização e utilização de coleções armazenadas nos bancos de genes, preservando ao máximo a diversidade genética de toda a coleção (BROWN, 1989). Embora uma CN nunca substitua uma coleção de trabalho muito especializada, sua estrutura e dimensão são fatores decisivos para estimular os pesquisadores a utilizarem o germoplasma com mais frequência do que aquele mantido na tradicional coleção ativa.

A partir do exposto é possível perceber que para o uso adequado dos recursos genéticos de um banco de germoplasma, é essencial conhecer a diversidade genética entre os acessos disponíveis, que permite a seleção dos genótipos e métodos de seleção adequados com os objetivos do programa de melhoramento genético. Compreender o potencial genético dos acessos de feijão-fava conservados nos bancos de germoplasma do Brasil é extremamente importante para a utilização dessa cultura em programas de melhoramento. Apesar da sua importância, variedades de feijão-fava melhoradas ainda não foram produzidas no Brasil e há pouca informação sobre seu sistema de reprodução e diversidade genética (PENHA et al., 2017).

Neste sentido, em virtude da necessidade de se caracterizar o BGP - UFPI com o intuito de intensificar do seu uso, surgiram alguns questionamentos.

Marcadores morfoagronômicos aliados às técnicas multivariadas são capazes de diferenciar o germoplasma de acordo com sua origem geográfica? Técnicas de inteligência artificial podem ser utilizadas na classificação do feijão-fava nos centros de domesticação e estado biológico (cultivado e silvestre) da espécie? Existe a possibilidade de estabelecer uma coleção nuclear dos acessos de feijão-fava do BGP - UFPI para estimular o seu uso?

Com base nas hipóteses estabelecidas, este trabalho foi dividido nos capítulos a seguir, com o objetivo de responder aos questionamentos citados:

- Capítulo I: Fenotipagem em feijão-fava de diversas origens;
- Capítulo II: Árvore de decisão como ferramenta na classificação de acessos de feijão-fava;
- Capítulo III: Estabelecimento de coleção nuclear em feijão-fava e validação baseada em marcadores moleculares.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 O objeto de estudo, *Phaseolus lunatus* L.

2.1.1 Aspectos gerais

O feijão-fava recebe várias denominações, em função da região cultivada ou forma de utilização na alimentação, entre elas: fava-belém, feijão-espadinho, feijão-de-lima, fava-de-lima ou simplesmente fava (GRIN, 2018). Esta espécie pertence ao gênero *Phaseolus*, estando classificada na divisão Angiospermae, classe Dicotyledoneae, subclasse Rosidae, ordem Fabales, subordem Leguminosae, família Leguminosae (Fabaceae), subfamília *Faboideae*, tribo *Phaseoleae* e subtribo *Phaseolineae* (SOUZA; LORENZI, 2008).

A espécie é predominantemente autógama, no entanto, um estudo realizado por Penha et al. (2017) mostrou que o feijão-fava do Brasil apresenta 38,1% de taxa de cruzamento natural, indicando um sistema misto de reprodução com predominância de autofecundação.

O ciclo do feijão-fava é anual, bienal ou perene, germinação epígea e hábito de crescimento indeterminado ou determinado. As folhas são trifoliadas, com forma redonda a lanceolada (Figura 1a). A inflorescência é em forma de racemo e, algumas vezes de diferentes tamanhos, mas geralmente, maiores que as folhas e com muitas flores (sendo menores que 10 mm) (Figura 1b). A cor das asas da flor pode variar de branca a violeta (Figura 1c) (BEYRA; ARTILES, 2004; MONTERO-ROJAS et al., 2013).

As vagens possuem bastante variação quanto ao comprimento e largura, com formato geralmente oblongas e recurvadas (Figura 1d), com duas alturas distintas (ventral e dorsal), e número de sementes variando de duas a quatro (SANTOS et al., 2002; ZIMMERMANN; TEIXEIRA, 1996). Silva et al. (2015), avaliando 24 acessos de feijão-fava a partir de descritores morfoagronômicos, encontraram que a largura da vagem foi o descritor que mais contribuiu para a divergência genética dos acessos estudados.

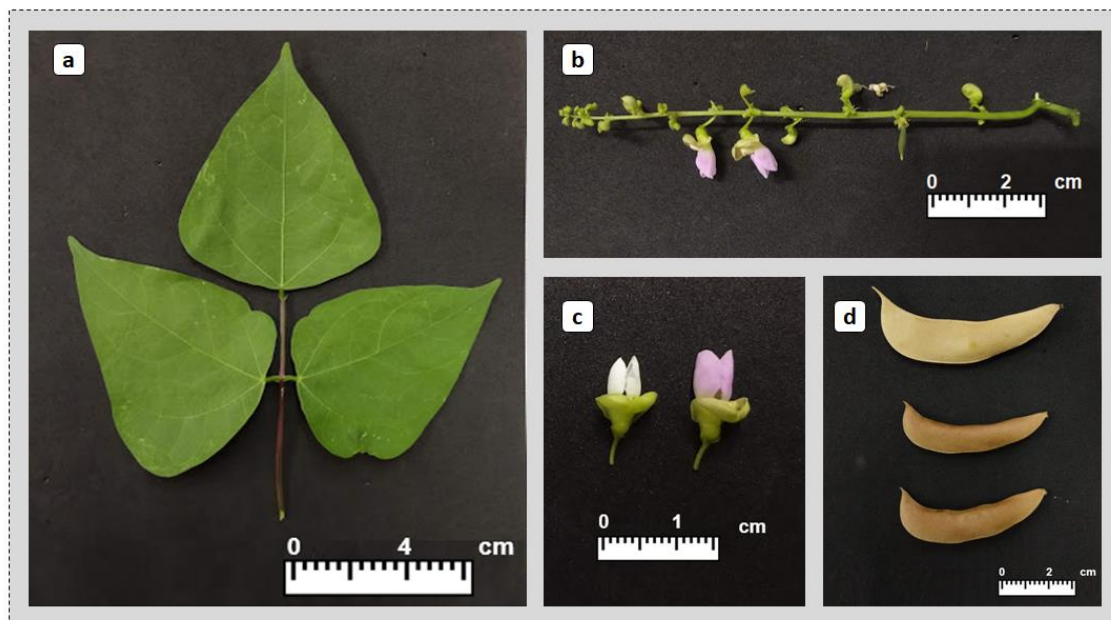


Figura 1. Feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.). a) folhas trifoliadas; b) inflorescência; c) flor; d) vagens.

As características das sementes possuem também alto grau de variação fenotípica (Figura 2a), importantes para o entendimento da diversidade genética e origem desta espécie (SILVA et al., 2017; VARGAS et al., 2003). A ampla variabilidade pode ser observada nos padrões de cor, forma (reniforme, redonda ou romboide) (Figura 2b) e cores dos tegumentos das sementes (SANTOS et al., 2010); além do comprimento, largura e peso de 100 sementes (SANTOS et al., 2002). As linhas que irradiam do hilo para a região dorsal, as diferenciam de outros feijões, mas em algumas variedades essas linhas podem ser ausentes (VIEIRA, 1992).



Figura 2. Sementes de feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.). a) Variação fenotípica; b) Forma da semente (reniforme, redonda ou romboide); c) Variedades botânicas: *P. lunatus* var. *silvester* e var. *lunatus*.

2.1.2 Origem e domesticação

A origem, distribuição e domesticação do feijão-fava têm sido amplamente estudadas por vários autores (ANDUEZA-NOH et al., 2013; ANDUEZA-NOH; MARTÍNEZ-CASTILLO; CHACÓN-SÁNCHEZ, 2015; CHACÓN-SÁNCHEZ; MARTÍNEZ-CASTILLO, 2017; FOFANA et al., 1999; FOFANA; JARDIN; BAUDOIN, 2001; MAQUET; VEKEMANS; BAUDOIN, 1999; RUIZ-GIL et al., 2016; SERRANO-SERRANO et al., 2012)

A espécie *P. lunatus* pode ser encontrada sob a forma de duas variedades botânicas: *P. lunatus* var. *lunatus*, que inclui as populações domesticadas, e *P. lunatus* var. *silvester*, constituída das populações silvestres (BAUDET, 1977).

Estudos indicam a existência de três grandes conjuntos ou *pool* genéticos que podem ser identificados como possíveis centros de domesticação para o

feijão-fava, um *pool* genético Andino (A) e dois *pools* genéticos Mesoamericanos (MI e MII); com um evento de domesticação em cada um deles: 1) para A, entre Equador e Peru na América do Sul (MAQUET et al., 1997); 2) região centro-oriental do México para MI (ANDUEZA-NOH et al., 2013; SERRANO-SERRANO et al., 2012); e 3) a região localizada entre a Guatemala e a Costa Rica para MII (ANDUEZA-NOH et al., 2013; ANDUEZA-NOH; MARTÍNEZ-CASTILLO; CHACÓN-SÁNCHEZ, 2015). Chacón-Sánchez e Martínez-Castillo (2017) utilizando a técnica de Genotipagem por Sequenciamento (GBS), identificaram outro possível centro de domesticação do feijão-fava nas Américas, o *pool* genético Andino (AII) na Colômbia Central.

Dentro da var. *lunatus*, pode-se observar a existência de três grupos, baseado nas características das sementes, são eles: 1) “*Sieva*” (pequenas sementes planas ou em forma de rim); 2) “*Batata*” (pequenas sementes globulares); e 3) “*Big Lima*” (com grandes sementes planas). O grupo “*Big Lima*” (tamanho variando de 58 a 122 g / 100 sementes, com uma média de cerca de 87 g / 100 sementes) representa o *pool* genético Andino, enquanto “*Sieva*” e “*Batata*” (tamanho variando de 30 a 78 g / 100 sementes, com uma média de cerca de 45 g / 100 sementes) representam o *pool* genético Mesoamericano (MI e MII) (BAUDET, 1977; GUTIÉRREZ-SALGADO; GEPTS; DEBOUCK, 1995; MOTTA-ALDANA et al., 2010).

A hipótese sobre eventos de domesticação em cada um dos conjuntos genéticos do germoplasma de feijão-fava é confirmada com um estudo realizado por Andueza-Noh et al. (2013), onde avaliaram 262 acessos em que se utilizou DNA de cloroplasto, sugerindo múltiplas origens de domesticação para a espécie. Além disso, os autores confirmaram que a diversidade genética foi bastante reduzida nas populações domesticadas em comparação com a população silvestre no nível de toda a espécie, e dentro do *pool* genético Mesoamericano de feijão-fava, suportando a existência de um efeito fundador dentro dessa espécie resultado da domesticação.

2.1.3 Importância socioeconômica

O feijão-fava é a segunda leguminosa mais importante do gênero *Phaseolus* (MAQUET; VEKEMANS; BAUDOIN, 1999). A cultura apresenta dois cenários diferentes: nos Estados Unidos, um dos maiores produtores, é

empregada tecnologia, possui cultivares lançadas e o plantio é feito em larga escala voltado para a indústria de conservas e exportação, tal como acontece com outras *commodities* (LONG et al., 2014); na Nigéria (EZEAGU; IBEGBU, 2010), México (CAMACHO-PÉREZ et al., 2018) e Brasil (BARBOSA; ARRIEL, 2018) a cultura assume um papel de subsistência na agricultura tradicional. A partir dos dados de levantamentos realizados pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), pode-se observar oscilações na produção e na área colhida de feijão-fava ao longo dos anos, ocasionado principalmente pela flutuação das precipitações no país (Figura 3).

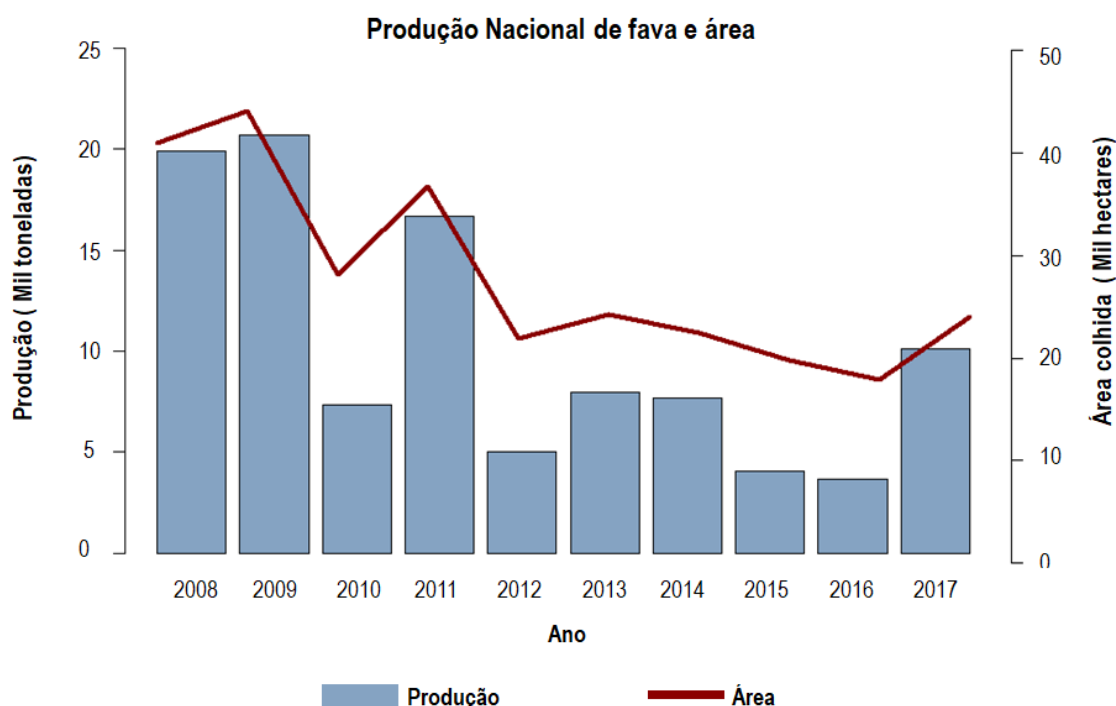


Figura 3. Produção nacional de feijão-fava e área colhida entre os anos de 2008 a 2017. Figura adaptada do Sistema IBGE de Recuperação Automática – SIDRA, 2019.

No Brasil, o feijão-fava é preferencialmente cultivado na região Nordeste, onde é amplamente consumido e, portanto, possui grande importância econômica (AZEVEDO; FRANCO; ARAÚJO, 2003; SILVA et al., 2015). Essa informação corrobora com levantamentos realizados pelo IBGE tendo os estados do nordeste entre os cinco maiores produtores de feijão-fava nos anos de 2013 a 2017, com destaque para os estados do Ceará, Paraíba, Piauí e Pernambuco, sempre aparecendo entre os cinco primeiros no ranking (Figura 4).

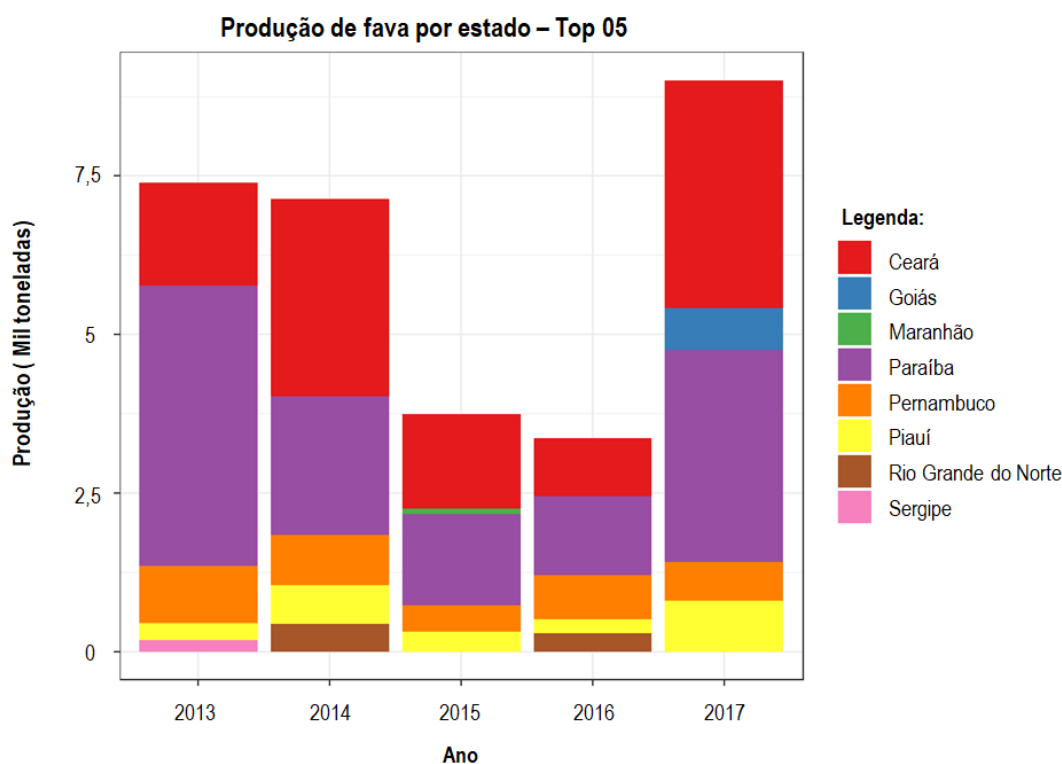


Figura 4. Produção de feijão-fava dos cinco estados mais produtores entre os anos de 2013 a 2017. Figura adaptada do Sistema IBGE de Recuperação Automática – SIDRA.

Em 2017, o estado de Goiás ficou na quarta posição, quebrando a hegemonia dos estados nordestinos (Figura 5), apresentando rendimento médio de $3.299 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$, bem superior aos estados do nordeste (IBGE, 2019).

O feijão-fava constitui-se em uma importante fonte de alimento, rico em proteínas para a população mundial (AZEVEDO; FRANCO; ARAÚJO, 2003; CHEL-GUERRERO et al., 2012; EZEAGU; IBEGBU, 2010). Os grãos verdes e secos são utilizados na culinária brasileira (LACERDA et al., 2017). Além disso, as vagens desta espécie também podem ser utilizadas na alimentação animal (VIEIRA, 1992).

No trabalho desenvolvido por Seidu et al. (2018), avaliando a composição física, mineral e de aminoácidos de quatro variedades de feijão-fava cultivadas nos estados do sudoeste da Nigéria, concluíram que as mesmas são boas fontes de proteínas, fibras e elementos minerais. Além de que, as variedades continham alto nível de aminoácidos essenciais que sugerem a aplicação potencial na formulação de alimentos para bebês.

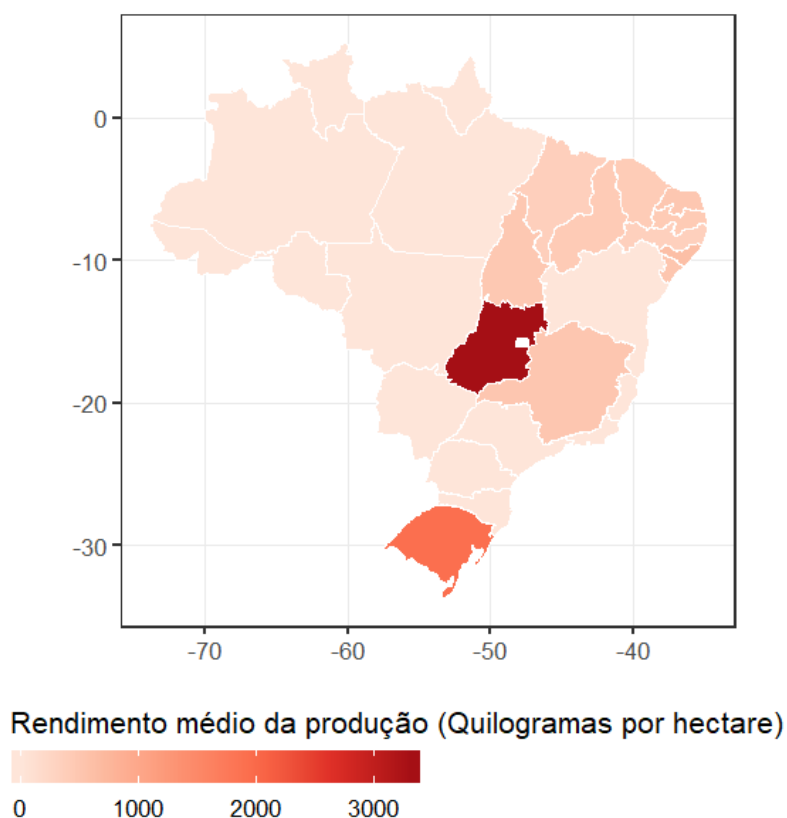


Figura 5. Rendimento médio da produção de feijão-fava nos estados brasileiros no ano de 2017. Figura adaptada do Sistema IBGE de Recuperação Automática – SIDRA.

Estudos recentes mostraram também que a lectina de sementes de feijão-fava brasileiro apresenta atividade antioxidante, antitumoral e gastroprotetora (LACERDA et al., 2017). Além disso, o feijão-fava pode ser utilizado também como adubo verde (PEGADO et al., 2008).

Apesar de seu grande potencial econômico, o cultivo do feijão-fava tem sido relativamente limitado. Dentre as razões para esse cultivo limitado, estão: a maior tradição de consumo dos feijões comum (*Phaseolus vulgaris*) e caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.), a baixa produtividade sem adoção de tecnologia, tempo de cocção mais longo e o sabor amargo do feijão fava, conferido pela presença elevada de ácido cianídrico (HCN). Além dessas, uma das principais razões para que o feijão-fava ainda seja pouco cultivado no Brasil, é a falta de cultivares recomendadas para as regiões produtoras (GUIMARÃES et al., 2007; SANTOS et al., 2002). Dessa forma, é de fundamental importância a compreensão do potencial genético dos acessos de feijão-fava mantidos em

bancos de germoplasma do país para a sua posterior utilização em programas de melhoramento genético (PENHA et al., 2017).

2.1.4 Conservação do germoplasma

Os recursos genéticos vegetais são o combustível para o melhoramento genético, que na busca por genótipos mais produtivos e adaptados, manipula genes a fim de atender às necessidades dos agricultores e, principalmente, do mercado atual. Todo programa de melhoramento depende, essencialmente, dos recursos genéticos dos bancos de germoplasma ou daqueles que são utilizados pelos agricultores (NASS et al., 2012).

A conservação dos recursos genéticos vegetais pode ser realizada por duas estratégias, *in situ* ou *ex situ*. A conservação *in situ* é caracterizada pela conservação no ecossistema e habitat natural, onde a espécie evoluiu. Um exemplo desse tipo de conservação é a conservação *on farm*, que corresponde o cultivo e manejo contínuo de populações de plantas no sistema tradicional realizado por comunidades locais e povos indígenas. Enquanto que a conservação *ex situ*, envolve a conservação do germoplasma fora do seu habitat natural, podendo ser feita em bancos de germoplasma, mantidos na forma de sementes, meristemas, propágulos e plantas, em câmaras frias ou no campo, de acordo com a característica da espécie. As duas estratégias de conservação são complementares e de suma importância para a preservação da biodiversidade (RAO, 2004).

As coleções de germoplasma de feijão-fava são conservadas em bancos de germoplasma de sementes. Os principais bancos de germoplasma localizam-se nos Estados Unidos (Departamento de Agricultura dos Estados Unidos - USDA), México (Instituto Nacional de Pesquisa Florestal, Agrícola e Pecuária - INIFAP) e Colômbia (Centro Internacional de Agricultura Tropical- CIAT). Essas instituições vêm buscando resgatar material cultivado em várias regiões, onde a erosão genética tem sido mais rápida (CAMARENA, 2005).

Segundo Knudsen (2000), outras instituições na América Latina e no Caribe que possuem coleções de germoplasma da espécie são: Estação Experimental Agropecuária Salta, Argentina; Instituto de Investigação Agrícola “El Vallecito” e Universidade Autônoma Gabriel René Moreno, Bolívia; Faculdade de Ciências Agrárias e Universidade Austral de Chile, Chile; Centro Agrônômico

Tropical de Investigación e Enseñanza (CATIE) e Escola de Biología, Costa Rica; Instituto de Investigaciones Fundamentales em Agricultura Tropical (INIFAT), Cuba; Centro Universitario de Sur Occidente (CUNSUROC) e Universidade de San Carlos, Guatemala; Ciências Agropecuárias, Instituto de Ecología Aplicada de Guerrero (INEAGRO), México. Estação Experimental Portoviejo (INIAP), Equador; Estação Experimental Agropecuária La Molina, Universidade Nacional Hermilio Valdizan (UNHEVAL) e Universidade Nacional Agrária La Molina, Peru.

No Brasil, as instituições que possuem bancos de germoplasma de feijão-fava são: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia (Cenargen), Brasília; Universidade Federal de Viçosa (UFV), Minas Gerais; Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Recife; e Universidade Federal do Piauí (UFPI), Teresina. Segundo Silva et al. (2017), as coleções obtidas no Brasil mostraram que a diversidade genética, refletida no número de variedades locais e na variação morfológica das sementes, pode ser tão alta quanto a relatada na Península de Yucatán, uma região considerada centro de diversidade para o *pool* genético mesoamericano.

O Banco Ativo de Germoplasma de *Phaseolus* da Universidade Federal do Piauí (BGP - UFPI) foi estabelecido em 2003, com coletas de variedades locais em comunidades agrícolas, feiras e mercados, tendo sido incorporados inicialmente 211 acessos. O BGP - UFPI possui 1345 acessos, até fevereiro de 2020, provenientes de vários estados do Brasil e de outros países. O aumento na quantidade de acessos se deve em grande parte aos esforços despendidos na realização de coletas e intercâmbios com instituições parcerias (Embrapa Cenargen, CIAT, USDA-ARS-GRIN e Universidade da Califórnia, em Davis). Muitos estudos estão sendo desenvolvidos, mostrando que o BGP - UFPI possui grande variabilidade genética e que a sua conservação é muito importante para o programa de melhoramento do feijão-fava da UFPI (ASSUNÇÃO-NETO et al., 2018; CARMO et al., 2013, 2015; CAVALCANTE et al., 2012; GONÇALVES et al., 2016; NASCIMENTO et al., 2018; OLIVEIRA et al., 2014; PENHA et al., 2017; SANTOS et al., 2010; SILVA et al., 2015; SOUSA et al., 2016).

2.2 Caracterização de germoplasma

As coleções de germoplasma *ex situ* aumentaram enormemente em número e tamanho. Entretanto, o número de acessos que efetivamente são

utilizados é muito pequeno se comparado com o grande potencial de uso do germoplasma conservado. Uma das principais razões para a subutilização de germoplasma, de acordo com curadores, melhoristas e demais usuários dos recursos genéticos vegetais, é a carência de informação disponível com relação aos recursos genéticos que estão conservados nos bancos de germoplasma (GOTOR et al., 2008; ODONG et al., 2013). Logo, para o conhecimento e utilização dos materiais conservados é imprescindível que esses estejam caracterizados e avaliados.

A caracterização é uma atividade essencial no manejo de coleções de germoplasma, e consiste em tomar dados para descrever, identificar e diferenciar acessos dentro de espécies, classes ou categorias (BURLE; OLIVEIRA, 2010; VICENTE et al., 2005). Desse modo, a caracterização busca avaliar a diversidade genética do germoplasma disponível, sendo uma ferramenta poderosa para acessar o conhecimento, permitindo a identificação dos acessos duplicados, o estabelecimento de coleções nucleares e a identificação dos modos de reprodução predominantes nos acessos, bem como da ocorrência ou não de variabilidade intrínseca em acessos individuais (VALLS, 2007). Existem diferentes formas complementares de caracterização: morfológica, agronômica, citogenética, química, bioquímica e molecular.

2.2.1 Caracterização morfoagronômica

A caracterização morfológica e agronômica é normalmente a forma mais acessível e econômica para conhecer e quantificar a diversidade genética nas coleções de germoplasma e tem sido bastante utilizadas simultaneamente, o que explica a denominação caracterização morfoagronômica. Esse tipo de caracterização tem sido utilizada para várias propostas, incluindo a identificação de duplicatas, estudos dos padrões de diversidade genética e correlações com características de importância agronômica (KARURI et al., 2010). Para a obtenção de tais informações, utilizam-se descritores específicos para cada espécie, não sendo necessário o uso de equipamentos sofisticados na avaliação, empregando abordagem simples para o conhecimento das características morfológicas e agronômicas.

Na caracterização morfológica do feijão-fava, os descritores utilizados são propostos pelo *International Plant Genetic Resources Institute* (IPGRI, 2001), hoje conhecido como *Bioversity International*.

Caracterizações morfoagronômicas têm sido amplamente utilizadas para distinguir acessos de feijão-fava (SANTOS et al., 2002; GUIMARÃES et al., 2007; CARMO et al., 2013; MONTERO-ROJAS et al., 2013; OLIVEIRA et al., 2014; BARREIRO NETO et al., 2015; SILVA et al., 2015, 2017; LÓPEZ-ALCOCER et al., 2016; LOPES et al., 2017; PINHEIRO et al., 2017; COSTA et al., 2019; GRANJA et al., 2019). Na maioria das avaliações, os caracteres que mais contribuíram para a divergência genética entre os acessos estão relacionados com a semente e vagem (CARMO et al., 2013; LÓPEZ-ALCOCER et al., 2016; SILVA et al., 2015).

O uso de algoritmos multivariados é uma excelente estratégia para quantificar a dissimilaridade entre os indivíduos baseados nos dados morfoagronômicos. A estatística multivariada corresponde a um conjunto de métodos e técnicas estatísticas que utilizam, simultaneamente, todas as informações dos caracteres na interpretação teórica do conjunto de dados obtidos, levando em consideração as correlações existentes entre as mesmas (HAIR et al., 2009). Dentre os métodos multivariados utilizados nos estudos de feijão-fava destaca-se: análise de agrupamentos (ASSUNÇÃO-NETO et al., 2018; BRITO et al., 2020; COSTA et al., 2019; GONÇALVES et al., 2016; GUIMARÃES et al., 2007; LÓPEZ-ALCOCER et al., 2016; MONTERO-ROJAS et al., 2013; NASCIMENTO et al., 2018; SILVA et al., 2015); análise de correlação canônica (CARMO et al., 2013; GONÇALVES et al., 2019; SILVA et al., 2017); análise de componentes principais; Ward - MLM (*Modified Location Model*) (SILVA et al., 2017).

2.2.2 Caracterização molecular

As características morfoagronômicas são importantes em análises de diversidade e na caracterização, tendo em vista que permitem o conhecimento e a organização das coleções de germoplasma, contudo, elas apresentam limitações, como a influência do ambiente, por exemplo. Nesse sentido, o processo de caracterização pode ser complementado e enriquecido com o auxílio dos marcadores moleculares, capazes de detectar o polimorfismo

diretamente do ácido desoxirribonucleico (DNA), também existem marcadores para outras moléculas, tais como: ácido ribonucleico (RNA) e proteínas.

Os marcadores moleculares são quaisquer fenótipos moleculares provenientes de quaisquer segmentos expressos ou não de DNA que são herdados geneticamente e se prestam à diferenciação de um ou mais indivíduos (FERREIRA; GRATTAPAGLIA, 1998). Entre as vantagens da utilização dos marcadores moleculares em relação aos marcadores morfológicos estão o fato de serem mais numerosos, detectarem maior quantidade de polimorfismo, excluïrem interferências ambientais, comportarem-se como caracteres de herança simples e previsível, possibilitarem a utilização em qualquer estágio de desenvolvimento da planta e tipos de tecido e a comparação de genótipos mesmo que estejam amostrados em diferentes ambientes. Desta forma, os marcadores moleculares permitem quantificar a diversidade genética, estimar a endogamia, caracterizar novas espécies e avaliar os padrões históricos de dispersão da espécie ou determinadas populações em questão (FREELAND, 2005).

Atualmente, existe uma grande variedade de marcadores moleculares disponíveis para diferentes espécies vegetais e para os mais diversos fins, incluindo a caracterização da diversidade genética em banco de germoplasma, identificação de duplicatas e desenho de coleções nucleares (BORÉM; CAIXETA, 2016). Os tipos de marcadores moleculares diferem entre si com relação a: estratégia para detecção do polimorfismo, abundância no genoma, os níveis de polimorfismo detectado, especificidade de *locos*, reprodutibilidade, requerimentos técnicos e custo (MONDINI; NOORANI; PAGNOTTA, 2009). Cabe ressaltar que nenhuma das técnicas existentes pode ser aplicada para responder todas as questões sobre análises genéticas em plantas, uma vez que cada uma delas possui suas vantagens e desvantagens, cabendo ao pesquisador decidir qual técnica usar a partir da análise dos seus recursos financeiros, materiais e seus objetivos.

No que diz respeito à caracterização da diversidade genética na espécie *P. lunatus*, vários estudos fizeram uso das diferentes técnicas moleculares: RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism*) (FOFANA et al., 1999); RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*) (GUIMARÃES et al., 2007; NIENHUIS et al., 1995); AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphism*)

(CASTIÑEIRAS et al., 2007); ISSR (*Inter Simple Sequence Repeats*) (CAMACHO-PÉREZ et al., 2018; MARTÍNEZ-CASTILLO; COLUNGA-GARCÍAMARÍN; ZIZUMBO-VILLARREAL, 2008); microssatélites ou SSR (*Simple Sequence Repeat*) (ANDUEZA-NOH; MARTÍNEZ-CASTILLO; CHACÓN-SÁNCHEZ, 2015; FÉLIX; COELLO-COELLO; MARTÍNEZ-CASTILLO, 2014; MARTÍNEZ-CASTILLO et al., 2006, 2007, 2012, 2014; MONTERO-ROJAS et al., 2013; PENHA et al., 2017; RUIZ-GIL et al., 2016; SILVA et al., 2019).

Recentemente os métodos clássicos de genotipagem molecular tem dado lugar ao sequenciamento de nova geração (SNG) possibilitando um estudo rápido e eficiente da diversidade a nível genômico. Como exemplo de marcador genômico existe a técnica de Genotipagem por Sequenciamento (GBS - *Genotyping by sequencing*), que foi utilizada por Chacón-Sánchez e Martínez-Castillo (2017) para identificar outro possível centro de domesticação do feijão-fava nas Américas, o *pool* genético Andino (All) na Colômbia Central.

Muitos desses estudos com marcadores moleculares no feijão-fava foram realizados com o objetivo de elucidar os seguintes assuntos em relação a espécie: domesticação, filogenia, processos evolutivos e erosão, estrutura e diversidade genética. Dentre estes, verifica-se que os marcadores microssatélites (SSR) se destacam pela utilização em artigos publicados com o feijão-fava, mostrando ser eficiente na detecção do polimorfismo da espécie.

2.2.2.1 Marcadores moleculares microssatélites

Os genomas eucariotos são densamente povoados por sequências simples repetidas, as quais constituem em um a seis nucleotídeos repetidos em *tandem*. Essas regiões são denominadas microssatélites, SSR (*Simple Sequence Repeat*) ou STR (*Short Tandem Repeat*) (JONES et al., 2009; OLIVEIRA et al., 2006). Os SSRs estão presentes tanto em regiões codantes como não codantes e estão distribuídos em todo o genoma. A maioria dessas regiões repetitivas é encontrada no DNA genômico, mas também são observadas em mitocôndrias e cloroplastos (BORÉM; CAIXETA, 2016). A detecção do polimorfismo é realizada pela amplificação dos *locos* microssatélites por meio da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) a partir do DNA genômico total, usando um par de iniciadores que flanqueiam um *loco* microssatélite específico.

As sequências de DNA que flanqueiam os SSR são geralmente conservadas entre indivíduos de uma mesma espécie, permitindo seleção de *primers* específicos que amplificam, via PCR, fragmentos contendo o DNA repetitivo em todos os genótipos. Os produtos da amplificação são observados em gel de poliacrilamida desnaturante ou não desnaturante ou em gel de agarose de alta resolução. A visualização das bandas no gel é realizada por coloração com brometo de etídio ou nitrato de prata. Têm sido usados também *primers* fluorescentes em combinação com sequenciador semiautomático de DNA (BORÉM; CAIXETA, 2016).

O alto polimorfismo dos SSRs é consequência da alta taxa de mutação (SCHLÖTTERER, 2000). Polimorfismos repetidos geralmente resultam da adição ou exclusão de unidades ou motivos repetidos inteiros. Portanto, indivíduos diferentes exibem variações como diferenças nos números repetidos. Em outras palavras, os polimorfismos observados em SSRs são o resultado de diferenças no número de repetições do motivo causadas por deslizamento da cadeia de polimerase na replicação do DNA ou por erros de recombinação (VIEIRA et al., 2016).

Marcadores microssatélites nucleares (ncSSR) são altamente polimórficos, possuem natureza multialélica, são codominantes, de fácil detecção (por meio de PCR) e análise, são abundantes no genoma e sua detecção requer pequenas quantidades de DNA. Aperfeiçoamento nos métodos de descobrimento e análises de ncSSR tem reduzido os custos e impulsionado a utilização destes marcadores (GUICHOUX et al., 2011). Além disso, possuem grande reprodutibilidade e as sequências iniciadoras podem ser compartilhadas entre diferentes grupos de pesquisa (GOLDSTEIN; POLLOCK, 1997). Estas propriedades tornaram os SSRs um dos marcadores mais populares em estudos de diversidade, genética de populações, mapeamento genético, processos evolutivos, seleção assistida por marcadores, entre outros (SCHLÖTTERER, 2004; VIEIRA et al., 2016).

Locos microssatélites foram utilizados por Montero-Rojas et al. (2013) para determinar a estrutura e a diversidade genética do feijão-fava do Caribe (Haiti, República Dominicana e Porto Rico), que revelaram um baixo nível de diferenciação entre os acessos desses países; e também, para avaliar os níveis de introgressão em três complexos silvestre-domesticado da Península de

Yucatán, no México, e analisar o impacto na diversidade genética da espécie (FÉLIX; COELLO-COELLO; MARTÍNEZ-CASTILLO, 2014).

Em contrapartida, a limitação dos SSRs está na necessidade de serem específicos para cada espécie, não sendo possível a utilização de “*primers* universais”. Nos estudos com SSR na espécie *P. lunatus*, vêm sendo usados marcadores microssatélites desenvolvidos e otimizados para o feijão-comum (*P. vulgaris*), visando determinar a estrutura genética apenas em escala regional, mostrando alta diferenciação genética entre populações silvestres e padrões de agrupamento baseados no isolamento geográfico e baixos níveis de fluxo gênico (OUÉDRAOGO; MAQUET; BAUDOIN, 2005; MARTÍNEZ-CASTILLO et al., 2006, 2014;).

2.3 Coleção nuclear

A gestão, avaliação e uso de grandes bancos de germoplasma é cara e ineficiente, devido a redundâncias, duplicações e dificuldade na análise detalhada de todos os acessos conservados (BROWN, 1989; XU et al., 2016). O tamanho das coleções e a limitação de recursos financeiros contribuíram para estabelecer a discrepância entre o crescimento e o uso das coleções. De modo a contornar esse problema, a formação de coleções nucleares (CNs) a partir de grandes coleções de germoplasma surge como uma estratégia para concentrar recursos, esforços, aprofundar conhecimentos e cruzar informações de modo a promover o uso eficiente da coleção de germoplasma (CORDEIRO; ABADIE, 2007).

Uma coleção nuclear (CN) pode ser definida como um pequeno conjunto de acessos representativos da variabilidade genética de uma coleção de germoplasma, com um mínimo de redundância e adequada aos propósitos de um pesquisador (BROWN, 1989; FRANKEL; BROWN, 1984). A abordagem da CN leva a reduzir a coleção inicial ou base (CI) a um tamanho gerenciável, representando ao mesmo tempo a diversidade genética. Desta forma, os acessos dentro da CN podem, mais facilmente e eficientemente, ser avaliados e usados em etapas subsequentes (GOVINDARAJ; VETRIVENTHAN; SRINIVASAN, 2015).

Segundo Brown e Spillane (1999), um procedimento geral para a seleção de uma CN pode ser dividido em cinco passos (Figura 6). Cada um desses

passos pode ser mais ou menos complexo, dependendo da informação e do procedimento usado.

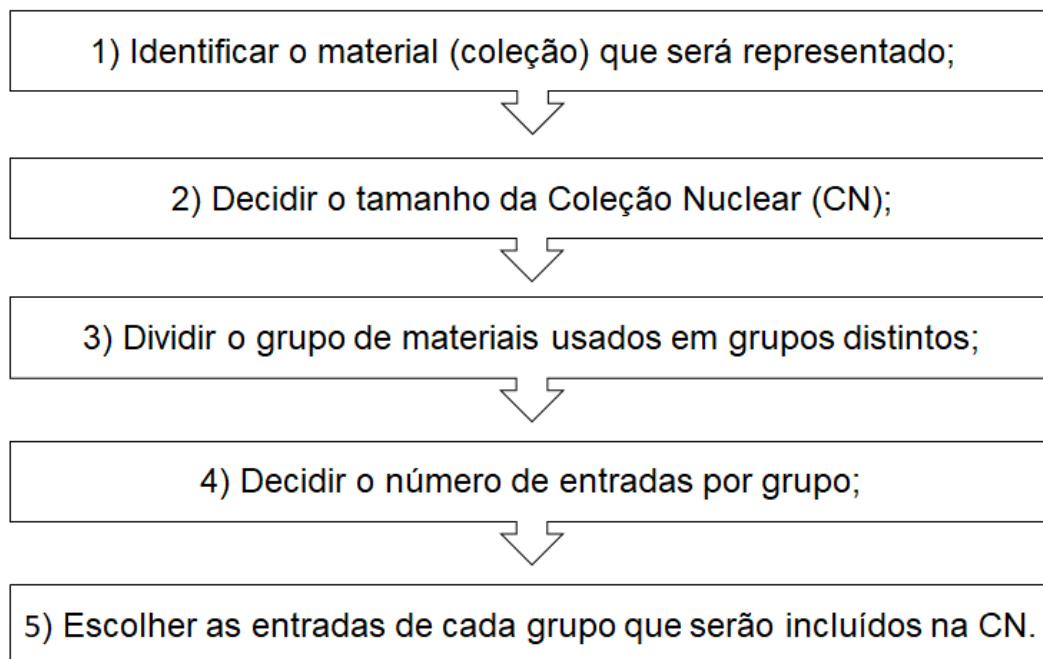


Figura 6. Diagrama demonstrando simplificada as etapas da seleção de uma coleção nuclear. Adaptado e modificado de Brown e Spillane (1999) e Yanfang et al. (2019).

A decisão do tamanho da CN e a escolha dos critérios de classificação dos materiais usados em grupos distintos requer um esforço integrado envolvendo os curadores, melhoristas e geneticistas. Tradicionalmente, as CNs são estabelecidas com tamanho em torno de 10% dos acessos de toda a CI e incluem aproximadamente 70% da diversidade genética. Na prática, as proporções variam de 5 a 20% dos acessos e de 70 a 90% da diversidade (BROWN; SPILLANE, 1999).

Vários descritores podem ser selecionados eventualmente em combinação para implementação de uma CN, os mais utilizados são: dados do passaporte, origem geográfica, características morfológicas e fenotípicas, bioquímicas, fitopatológicas e marcadores moleculares (BALFOURIER et al., 2007; BHATTACHARJEE et al., 2007; KUMAR et al., 2016; MARTINS; SILVA; CARNEIRO, 2015). Cada tipo de descritor tem suas próprias vantagens e desvantagens para o estabelecimento da CN. O uso de marcadores

moleculares, refletindo diretamente a variação no nível genético, é preferido porque cada entrada na CN é escolhida com base em seu potencial alélico, independentemente de sua expressão fenotípica. No entanto, as metodologias baseadas em marcadores moleculares são muitas vezes dispendiosas, exigem muita mão-de-obra e requerem perícia e equipamento nem sempre disponíveis. As dificuldades ocorrem principalmente lidando com grandes coleções de plantas (MAHMOODI et al., 2019).

Outra etapa importante no estabelecimento de uma CN é decidir o número de entradas por grupo. Diferentes tipos de características e estratégias de amostragem têm sido desenvolvidos para o estabelecimento de CNs. Procedimentos de estabelecimento e amostragens são disponíveis em Brown e Spillane (1999), Van Hintum et al. (2000), Vasconcelos et al. (2007) e Vasconcelos et al. (2010).

Na metodologia utilizada por Vasconcelos et al. (2010), nos grupos obtidos por cada critério de agrupamento, foram aplicados diferentes esquemas de amostragem: aleatória, dentro de cada grupo; proporcional ao número de acessos de cada grupo; e com base na relação do logaritmo do tamanho do grupo, pela soma do logaritmo de todos os grupos. Em um estudo realizado por Yanfang et al. (2019) para o desenvolvimento da CN de amora (*Morus L.*) originada na China, foram utilizados 560 acessos com 40 descritores morfológicos e quatro estratégias de amostragem estratificada para a seleção dos acessos dentro de cada grupo (proporção: constante, logaritmo, raiz quadrada e diversidade). Com esses dados, os autores concluíram que a proporção do logaritmo pode ser adequada para amostragem dentro do grupo.

Na construção de uma CN de arroz no Brasil, também foram utilizadas quatro alternativas de alocação de amostra, entre aquelas adotadas para o estrato das variedades tradicionais (várzeas, terras altas e facultativo): i) aleatória simples; ii) estratificada proporcional ao número de acessos de cada sistema de cultivo na coleção; iii) estratificada proporcional ao logaritmo do número de acessos de cada sistema de cultivo na coleção; e iv) estratificada proporcional ao produto do Índice de Shannon pelo logaritmo do número de acessos de cada sistema de cultivo na coleção. Entre as estratégias de amostragens avaliadas, aquelas com alocação proporcional ao logaritmo do

número de acessos de cada estrato, ponderada ou não pelo Índice de Shannon, foram as que melhor atenderam o critério proposto (ABADIE et al., 2005).

Já no estabelecimento da CN de milheto, baseada na distribuição geográfica e características quantitativas, a seleção dos acessos dentro de cada grupo optou pela estratégia de amostragem proporcional (BHATTACHARJEE et al., 2007). As estratégias logarítmica e proporcional têm sido amplamente utilizadas nos trabalhos que envolvem o estabelecimento de CNs.

A etapa final para estabelecer a CN consta da escolha das entradas de cada grupo. Os acessos selecionados devem ser aqueles que melhor representam o grupo com importância para a coleção. A estratégia para seleção dos acessos por meio da técnica Tocher invertido, ou seja, Tocher com critério de agrupamento inverso, foi proposta por Vasconcelos et al. (2007), que consiste na formação de um único grupo, a partir do agrupamento de acessos com maior dissimilaridade, que corresponde à CN. Esta estratégia tem sido empregada com sucesso na obtenção de CN representativa da CI, em relação a recuperação da média, variância e coeficiente de determinação, gerando valores do coeficiente de coincidência superior a 80% (OLIVEIRA et al., 2010; VASCONCELOS et al., 2007).

Uma vez estabelecida a CN, é necessário fazer a validação da representatividade das estratégias para sua formação. Este processo envolve usualmente compará-la com a CI da qual foi desenvolvida (BHATTACHARJEE et al., 2007). A representatividade da CN em relação à CI para fins de conservação significa manutenção da variabilidade genética, ou seja, são desejáveis igualdade entre as médias, amplitudes e correlações entre as características das coleções. Significa também, diferenças entre as distribuições uma vez que ocorrem desigualdades de variância ($\text{variância da CI} < \text{variância da CN}$) e curtose ($\text{curtose da CI} > \text{curtose da CN}$) (VAN HINTUM et al., 2000).

Em um trabalho para avaliar a qualidade das CNs na utilização efetiva dos recursos genéticos, Odong et al. (2013) demonstraram que diferentes métodos citados na literatura são algumas vezes utilizados arbitrariamente, resultando em falsas conclusões a respeito da qualidade das CNs e dos métodos para selecioná-los. O critério de escolha para avaliar a qualidade das CNs deve ser determinado pelos objetivos ou tipo da CN. Os autores também recomendam o uso de critérios baseados em distância, uma vez que eles não apenas permitem

a avaliação simultânea de todas as variáveis que descrevem os acessos, mas também fornecem critérios intuitivos e interpretáveis, em comparação com os critérios univariados geralmente usados para a avaliação das CNs.

O desenvolvimento de CNs tem sido incentivado pela FAO como uma atividade essencial na conservação de recursos genéticos de plantas (FAO, 1996). Várias coleções nucleares têm sido desenvolvidas para diversas espécies cultivadas, com o intuito de aumentar a utilização dos acessos mantidos nos bancos e sua incorporação nos programas de melhoramento. Em âmbito mundial, várias CNs foram estabelecidas para as espécies: soja (GUO et al., 2014), sorgo (UPADHYAYA et al., 2009), trigo (BALFOURIER et al., 2007), arroz (LI et al., 2002), milho (BHATTACHARJEE et al., 2007), pimenta (LEE et al., 2016; MONGKOLPORN et al., 2015), amora (YANFANG et al., 2019), noz persa (MAHMOODI et al., 2019), maçã (LASSOIS et al., 2016; LIANG et al., 2015; PEREIRA-LORENZO et al., 2018), argania (MOUHADDAB et al., 2017) e caqui (ZHANG et al., 2009).

No cenário nacional, também foram estabelecidas para: arroz (ABADIE et al., 2005), milho (NETTO et al., 2004), tomate (MARTINS; SILVA; CARNEIRO, 2015), pupunha (CRISTO-ARAÚJO et al., 2015) e feijão-comum (VALDISSER et al., 2017).

Com feijão-fava, apenas um estabelecimento de CN foi publicado até 2020 (GOMES et al., 2020). Nesse estudo foi analisada a estrutura da variabilidade genética entre acessos de feijão-fava do BGP - UFPI, utilizando 11 SSRs. Os 153 acessos foram representados usando o mínimo de 34 acessos, o que representou 22,2% do tamanho da coleção inicial, com baixa redundância. Os autores concluíram que a CN proposta deve ser periodicamente atualizada, incluindo germoplasma adicional de feijão-fava na CI, além disso, a mesma deve ser examinada detalhadamente em relação à resistência a doenças, como antracnose, e a seca. Esta informação pode então ser utilizada com os dados de diversidade genética para desenvolver variedades melhoradas de feijão-fava que apresentem performance superior e ampla base genética.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABADIE, T. et al. Construção de uma coleção nuclear de arroz para o Brasil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 40, n. 2, p. 129–136, 2005.

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

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

ASSUNÇÃO-NETO, W. V. et al. Genetic diversity in *Phaseolus lunatus* L. based on morphological seed characters. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, v. 61, p. 199–200, 2018.

AZEVEDO, J. N.; FRANCO, L. J. D.; ARAÚJO, R. O. DA C. **Composição química de sete variedades de feijão-fava**. Teresina, 2003. 4p. (Embrapa Meio-Norte: Comunicado Técnico, 152).

BALFOURIER, F. et al. A worldwide bread wheat core collection arrayed in a 384-well plate. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 114, n. 7, p. 1265–1275, 2007.

BARBOSA, G. J.; ARRIEL, N. H. C. Feijão-fava e a agricultura familiar de Serraria, PB. **Cadernos de Ciência & Tecnologia**, Brasília, v. 35, n. 3, p. 387–403, 2018.

BAUDET, J. C. The taxonomic status of the cultivated types of lima bean (*Phaseolus lunatus* L.). **Tropical Grain Legume**, Ibadan, v. 7, p. 29–30, 1977.

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

BHATTACHARJEE, R. et al. Establishment of a pearl millet [*Pennisetum glaucum* (L.) R. Br.] core collection based on geographical distribution and quantitative traits. **Euphytica**, v. 155, p. 35–45, 2007.

BORÉM, A.; CAIXETA, E. T. **Marcadores moleculares**. Viçosa, MG: Editora UFV, 2016, 385 p.

BRITO, M. V. et al. Univariate and multivariate approaches in the characterization of lima bean genotypes. **Revista Caatinga**, v. 33, n. 2, p. 571–578, 2020.

BROWN, A. H. D. Core collections: a practical approach to genetic resources management. **Genome**, v. 31, p. 818–824, 1989.

BROWN, A. H. D.; SPILLANE, C. Implementing core collections – principles, procedures, progress, problems and promise. In: JOHNSON, R. C.; HODGKING, T. (Ed.). **Core collections for today and tomorrow**. Rome: Italy: IPGRI, 1999. p. 1–9.

BURLE, M. L.; OLIVEIRA, M. S. P. **Manual de curadores de germoplasma - vegetal: caracterização morfológica**. Documentos/ Embrapa Recursos

Genéticos e Biotecnologia, 378. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2010. 15p.

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

CAMARENA, F. Magnitud e impacto potencial de la liberación de organismos genéticamente modificados y sus productos comerciales: Caso: leguminosas de grano. In: HIDALGO, O.; ROCA, W.; FERNÁNDEZ-NORTHCOTE, E. N. (Eds.). **Magnitud e impacto potencial de la liberación de organismos genéticamente modificados y sus productos comerciales: casos algodón, leguminosas de grano, maíz y papa**. Lima: Consejo Nacional del Ambiente, 2005. p. 19-40.

CARMO, M. D. S. et al. Genetic variability in subsamples of determinate growth lima bean. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 13, p. 158–164, 2013.

CARMO, M. D. S. et al. 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.

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

CAVALCANTE, G. R. S. et al. Reação de subamostras de feijão-fava à antracnose. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, 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. et al. Lima Bean (*Phaseolus lunatus*) Protein Hydrolysates with ACE-I Inhibitory Activity. **Food and Nutrition Sciences**, v. 3, p. 511–521, 2012.

CORDEIRO, C. M. T.; ABADIE, T. Coleções nucleares. In: NASS, L. L. (Ed.). **Recursos genéticos vegetais**. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2007. p. 575–604.

COSTA, J. C. et al. Genetic Parameters in the Initial Phase of Collaborative Plant Breeding in Lima-Beans (*Phaseolus lunatus*). **Journal of Experimental Agriculture International**, v. 36, n. 6, p. 1–6, 2019.

CRISTO-ARAÚJO, M. et al. Peach palm core collection in Brazilian Amazonia. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 15, p. 18–25, 2015.

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

FAO. Global plan of action for the conservation and sustainable utilization of plant genetic resources for food and agriculture. **International Technical Conference on Plant Genetic Resources**, p. 63p., 1996.

- FÉLIX, D.T.; COELLO-COELLO, J.; MARTÍNEZ-CASTILLO, J. Wild to crop introgression and genetic diversity in Lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) in traditional Mayan milpas from Mexico. **Conservation Genetics**, v. 15, p. 1315–1328, 2014.
- FERREIRA, M. E. GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética**. 3. ed. Brasília: Embrapa- CENARGEN, 1998. p. 220.
- FOFANA, B. et al. 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. DU; BAUDOIN, 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, n. 5, p. 437–445, 2001.
- FRANKEL, O. H.; BROWN, A. H. D. Plant genetic resources today: a critical appraisal. In: HOLDEN, J. H. W.; WILLIAMS, J.T. (Ed.). **Crop genetic resources: conservation and evaluation**. London: Allen & Unwin, 1984. p. 249–257.
- FREELAND, J. R. **Molecular Ecology**. Hoboken: Wiley-Blackwell, 2005. p. 400.
- GOLDSTEIN, D. B.; POLLOCK, D. D. Launching microsatellites: a review of mutation processes and methods of phylogenetic inference. **Journal of Heredity**, Oxford, v. 88, p. 335–342, 1997.
- GOMES, R. L. F. et al. A lima bean core collection based on molecular markers. **Scientia Agricola**, v. 77, n. 2, p. 1–8, 2020.
- GONÇALVES, G. D. M. C. et al. Genetic dissimilarities between fava bean accessions using morphoagronomic characters. **Revista Caatinga**, v. 32, n. 4, p. 1125–1132, 2019.
- GONÇALVES, G. M. C. et al. Genetic variability in lima bean accessions of the germplasm active bank. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, v. 59, p. 209–210, 2016.
- GOTOR, E. et al. The scientific information activity of Bioversity International: the descriptor lists. **Genetic Resources Crop Evolution**, v. 55, n. 5, p. 757–772, 2008.
- GOVINDARAJ, M.; VETRIVENTHAN, M.; SRINIVASAN, M. Importance of genetic diversity assessment in crop plants and its recent advances: An overview of its analytical perspectives. **Genetics Research International**, p. 1–14, 2015.
- GRANJA, M. B. et al. Variedades de feijão-fava submetidas à níveis de salinidade e adubação orgânica. **Colloquium Agrariae**, v. 15, n. 1, p. 104–114, 2019.
- GRIN - **Germplasm Resources Information Network**. National Germplasm Resources Laboratory, Beltsville, Maryland [2018]. Disponível em: <<http://www.ars-grin.gov/misc/mmpnd/Phaseolus.html>>. Acesso em 18 de julho de 2018.
- GUICHOUX, E. et al. Current trends in microsatellite genotyping. **Molecular Ecology Resources**, v. 11, n. 4, p. 591–611, 2011.

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

GUO, Y. et al. Establishment of the integrated applied core collection and its comparison with mini core collection in soybean (*Glycine max*). **Crop Journal**, v. 2, p. 38–45, 2014.

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.

HAIR, J. F. et al. **Análise Multivariada de dados**. Editora Bookman, Porto Alegre, 6ª ed., 2009 688 p.

IBGE - **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**. Banco de dados agregados: pesquisa: produção agrícola municipal. Rio de Janeiro, 2019. Disponível em: < <https://sidra.ibge.gov.br/Tabela/1612> > Acesso em 20 de março de 2019.

IPGRI. Descritores para *Phaseolus lunatus* (feijão-espadinho). **International Plant Genetic Resources Institute**, Rome: 2001. 51p.

JONES, N. et al. Markers and mapping revisited: finding your gene. **New Phytologist**, v. 183, p. 935–966, 2009.

KARURI, H. W. et al. Evaluating diversity among Kenyan sweet potato genotypes using morphological and SSR markers. **International Journal of Agriculture & Biology**, Beijing, v. 12, n. 1, p. 33–38, 2010.

KNUDSEN, H. **Directorio de colecciones de Germoplasma en America Latina y el Caribe**. Primera edición. International Plant Genetic Resources Institute (IPGRI), Roma, 2000. 381p.

KUMAR, S. et al. Utilization of molecular, phenotypic , and geographical diversity to develop compact composite core collection in the oilseed crop , safflower (*Carthamus tinctorius* L.) through maximization strategy. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, p. 1–14, 2016.

LACERDA, R. R. E et al. Lectin from seeds of a Brazilian lima bean variety (*Phaseolus lunatus* L. var. cascavel) presents antioxidant, antitumour and gastroprotective activities. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 95, p. 1072–1081, 2017.

LASSOIS, L. et al. Genetic diversity, population structure , parentage analysis, and construction of core collections in the French apple germplasm based on SSR markers. **Plant Molecular Biology Reporter**, v. 34, p. 827–844, 2016.

LEE, H. Y. et al. Genetic diversity and population structure analysis to construct a core collection from a large *Capsicum* germplasm. **BMC Genetics**, v. 17, p. 1–13, 2016.

LI, Z. et al. Studies on sampling schemes for the establishment of core collection of rice landraces in Yunnan, China. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 49, p. 67–74, 2002.

LIANG, W. et al. Genetic diversity, population structure and construction of a core collection of apple cultivars from Italian germplasm. **Plant Molecular Biology**

Reporter, v. 33, p. 458–473, 2015.

LONG, R. et al. Lima Bean Production in California. **8505, ANR Publication**, n. May, p. 1–24, 2014.

LOPES, A. C. A. et al. Diversidade genética. In: ARAÚJO, A. S. F.; LOPES, A. C. A.; GOMES, R. L. F. (ORG). **A cultura do feijão-fava no Meio-Norte do Brasil**. 1. ed. Teresina: EDUFPI, 2010. p. 45–72.

LOPES, N. S. et al. Produtividade de fava e milho em função do sistema de consórcio em regime de sequeiro na região do Cariri-CE. **AGRARIAN ACADEMY**, Goiânia, v. 4, n. 8, p. 220–227, 2017.

LÓPEZ-ALCOCER, J. J. et al. Variabilidad morfológica de *Phaseolus lunatus* L. silvestre de la región occidente de México. **Revista Fitotecnia Mexicana**, v. 39, n. 1, p. 49–58, 2016.

MAHMOODI, R. et al. Development of a core collection in Iranian walnut (*Juglans regia* L.) germplasm using the phenotypic diversity. **Scientia Horticulturae**, v. 249, p. 439–448, 2019.

MAQUET, A. et al. Genetic structure of a Lima bean base collection using allozyme markers. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 95, p. 980–991, 1997.

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

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

MARTÍNEZ-CASTILLO, J. et al. Structure and genetic diversity of wild populations of Lima Bean (*Phaseolus lunatus* L.) from the Yucatan Peninsula, Mexico. **Crop Science**, v. 46, p. 1071–1080, 2006.

MARTÍNEZ-CASTILLO, J. et al. Gene flow and genetic structure in the wild-weedy-domesticated complex of *Phaseolus lunatus* L. in its Mesoamerican Center of domestication and diversity. **Crop Science**, v. 47, p. 58–66, 2007.

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

MARTÍNEZ-CASTILLO, J. et al. Genetic structure within the mesoamerican gene pool of wild *Phaseolus Lunatus* (Fabaceae) from Mexico as revealed by Microsatellite Markers: implications for conservation and the domestication of the species. **American Journal of Botany**, v. 101, n. 5, 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.

MARTINS, F. A.; SILVA, D. J. H.; CARNEIRO, P. C. S. Establishing a core collection from the integration of morphoagronomical, phytopathological and molecular data. **Revista Ciencia Agronomica**, v. 46, n. 4, p. 836–845, 2015.

MONDINI, L.; NOORANI, A.; PAGNOTTA, M. A. Assessing plant genetic diversity

by molecular tools. **Diversity**, Basel, v. 1, p. 19–35, 2009.

MONGKOLPORN, O. et al. Establishment of a core collection of chilli germplasm using microsatellite analysis. **Plant Genetic Resources: Characterisation and Utilisation**, v. 13, n. 2, p. 104–110, 2015.

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

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

MOUHADDAB, J. et al. Using microsatellite markers to map genetic diversity and population structure of an endangered Moroccan endemic tree (*Argania spinosa* L. Skeels) and development of a core collection. **Plant Gene**, v. 10, p. 51–59, 2017.

NASCIMENTO, H. L. et al. Selection of representative genotypes of lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) from Brasil. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, v. 61, p. 201–202, 2018.

NASS, L. L. et al. Genetic resources: the basis for sustainable and competitive plant breeding. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, p. 75–86, 2012.

NETO, M. B. et al. Características morfológicas e produtivas em acessos de feijão-fava consorciados. **Tecnologia & Ciência Agropecuária**, João Pessoa, v. 9, n. 3, p. 23–27, 2015.

NETTO, D. A. M. et al. Avaliação agronômica e molecular de acessos da coleção núcleo de milho, subgrupo endosperma duro. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 3, n. 1, p. 92–107, 2004.

NIENHUIS, J. et al. Genetic relationships among cultivars and landraces of lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) as measured by RAPD markers. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 120, n. 2, p. 300–306, 1995.

ODONG, T. L. et al. Quality of core collections for effective utilisation of genetic resources review, discussion and interpretation. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 126, p. 289–305, 2013.

OLIVEIRA, A. E. S. et al. Desenvolvimento do feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.) sob déficit hídrico cultivado em ambiente protegido. **HOLOS**, v. 01, p. 143–151, 2014.

OLIVEIRA, E. J. et al. Origin, evolution and genome distribution of microsatellites. **Genetics and Molecular Biology**, v. 29, n. 2, p. 294–307, 2006.

OLIVEIRA, M. F. et al. Establishing a soybean germplasm core collection. **Field Crops Research**, v. 119, p. 277–289, 2010.

OUÉDRAOGO, M.; MAQUET, A.; BAUDOIN, J. P. Étude comparative de la diversité et de la structure génétique de populations sauvages de *Phaseolus lunatus* L. à l'aide des marqueurs enzymatiques et microsatellites. **Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement**, v. 9, n. 3, p. 195–205, 2005.

PEGADO, C. M. A. et al. Decomposição superficial e sub superficial de folhas de

- fava (*Phaseolus lunatus* L.) na região do Brejo da Paraíba, Brasil. **Revista caatinga**, Mossoró, v. 21, n. 1, p. 218–223, 2008.
- PENHA, J. S. et al. Estimation of natural outcrossing rate and genetic diversity in Lima bean (*Phaseolus lunatus* L. var. *lunatus*) from Brazil using SSR markers: implications for conservation and breeding. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 64, p. 1355–1364, 2017.
- PEREIRA-LORENZO, S. et al. Genetic diversity and core collection of *Malus x domestica* in northwestern Spain, Portugal and the Canary Islands by SSRs. **Scientia Horticulturae**, v. 240, p. 49–56, 2018.
- PINHEIRO, R. A. et al. Morpho-agronomic characterization of lima bean. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, n. 60, p. 97–98, 2017.
- RAO, N. K. Plant genetic resources: Advancing conservation and use through biotechnology. **African Journal of Biotechnology**, v. 3, n. 2, p. 136–145, 2004.
- RUIZ-GIL, P. J. et al. Differentiation and genetic diversity of *Phaseolus lunatus* wild populations from Chiapas, Mexico, and their genetic relationships with MI and MII groups. **Botanical Sciences**, v. 94, n. 4, p. 701–712, 2016.
- SANTONIERI, L.; BUSTAMANTE, P. G. Conservação *ex situ* e *on farm* de recursos genéticos: desafios para promover sinergias e complementaridades. **Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi: Ciências Humanas**, v. 11, n. 3, p. 677–690, 2016.
- SANTOS, D. et al. 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. et al. Genetic divergence for physical and chemical characters of seeds in lima bean (*Phaseolus lunatus*). **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, Michigan, v. 3, n. 5, p. 178–179, 2010.
- SCHLÖTTERER, C. Evolutionary dynamics of microsatellite DNA. **Chromosoma**, v. 109, p. 365–371, 2000.
- SCHLÖTTERER, C. The evolution of molecular markers - just a matter of fashion? **Nature Reviews Genetics**, London, v. 5, p. 63–69, 2004.
- SEIDU, K. T.; OSUNDAHUNSI, O. F. OSAMUDIAMEN, P. M. Nutrients assessment of some lima bean varieties grown in southwest Nigeria. **International Food Research Journal**, v. 25, n. 2, p. 848–853, 2018.
- SERRANO-SERRANO, M. L. et al. Evolution and domestication of lima bean in Mexico: Evidence from ribosomal DNA. **Crop Science**, p. 1698–1712, 2012.
- SILVA, R. N. O. et al. High diversity of cultivated lima beans (*Phaseolus lunatus*) in Brazil consisting of one Andean and two Mesoamerican groups with strong introgression between the gene pools. **Genetics and Molecular Research**, v. 18, n. 4, p. 1–15, 2019.
- SILVA, R. N. O. et al. Phenotypic diversity in lima bean landraces cultivated in Brazil, using the Ward-MLM strategy. **Chilean Journal of Agricultural Research**, v. 77, n. 1, p. 35–40, 2017.
- SILVA, V. B. et al. Genetic diversity and promising crosses indication in lima bean (*Phaseolus lunatus*) accessions. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 36, n. 2, p. 683–

692, 2015.

SOUSA, A. M. C. B. et al. Documentation of the germplasm active bank of *Phaseolus lunatus* L. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, v. 59, p. 191–192, 2016.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APG II**. 2. ed. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2008.

UPADHYAYA, H. D. et al. Developing a mini core collection of sorghum for diversified utilization of germplasm. **Crop Science**, v. 49, n. 5, p. 1769–1780, 2009.

VALDISSER, P. A. M. R. et al. In-depth genome characterization of a Brazilian common bean core collection using DArTseq high-density SNP genotyping. **BMC Genomics**, v. 18, p. 1–19, 2017.

VALLS, J. F. M. Caracterização de recursos genéticos vegetais. In: NASS, L. L. (Ed.). **Recursos genéticos vegetais**. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2007. p. 281–305.

VAN HINTUM, T. J. L. et al. **Core collections of plant genetic resources**. Roma: IPGRI Technical Bulletin, 2000.

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

VASCONCELOS, E. S. et al. Estratégias de amostragem e estabelecimento de coleções nucleares. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v. 42, n. 4, p. 507–514, 2007.

VASCONCELOS, E. S. et al. Tamanho de coleção original, métodos de agrupamento e amostragem para obtenção de coleção nuclear de germoplasma. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 45, n. 12, p. 1448–1455, 2010.

VICENTE, M. C. et al. Genetic characterization and its use in decision making for the conservation of crop germplasm. In: **The Role of Biotechnology**, 2005, Turin. Proceedings... Turin, 2005. p.121-128.

VIEIRA, M. L. C. et al. Microsatellite markers: what they mean and why they are so useful. **Genetics and Molecular Biology**, v. 39, n. 3, p. 312–328, 2016.

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

XU, Y. et al. Developing a core collection of *Pyropia haitanensis* using simple sequence repeat markers. **Aquaculture**, v. 452, p. 351–356, 2016.

YANFANG, Z. et al. Development of a mulberry core collection originated in China to enhance germplasm conservation. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 19, p. 55–61, 2019.

ZHANG, Y. F. et al. Development of Japanese persimmon core collection by genetic distance sampling based on SSR markers. **Biotechnology and Biotechnological Equipment**, v. 23, p. 1474–1478, 2009.

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

PÁGINAS RESTRITAS

48 À 96

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDUEZA-NOH, R. H.; MARTÍNEZ-CASTILLO, J.; CHACÓN-SÁNCHEZ, M. I. Domestication of small-seeded lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) landraces in Mesoamerica: evidence from microsatellite markers. **Genetica**, v. 143, p. 657–669, 2015.
- BALFOURIER, F. et al. A worldwide bread wheat core collection arrayed in a 384-well plate. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 114, n. 7, p. 1265–1275, 2007.
- BAUDET, J. C. The taxonomic status of the cultivated types of lima bean (*Phaseolus lunatus* L.). **Tropical Grain Legume**, Ibadan, v. 7, p. 29–30, 1977.
- BHATTACHARJEE, R. et al. Establishment of a pearl millet [*Pennisetum glaucum* (L.) R. Br.] core collection based on geographical distribution and quantitative traits. **Euphytica**, v. 155, p. 35–45, 2007.
- BROWN, A. H. D. Core collections: a practical approach to genetic resources management. **Genome**, v. 31, p. 818–824, 1989a.
- BROWN, A. H. D. The case for core collections. In: BROWN, A. H. D.; FRANKEL, O. H.; MARSHALL, D. R.; WILLIAMS, J. T. (Ed.). **The use of plant genetic resources**. Cambridge: Cambridge University, 1989b. p. 136–156.
- BROWN, A. H. D.; SPILLANE, C. Implementing core collections – principles, procedures, progress, problems and promise. In: JOHNSON, R. C.; HODGKING, T. (Ed.). **Core collections for today and tomorrow**. Rome: Italy: IPGRI, 1999. p. 1–9.
- BURLE, M. L. et al. Microsatellite diversity and genetic structure among common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) landraces in Brazil, a secondary center of diversity. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 121, p. 801–813, 2010.
- 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.
- DIWAN, N.; McINTOSH, M. S.; BAUCHAN, G. R. Methods of developing a core collection of annual *Medicago* species. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 90, p. 755–761, 1995.
- DOYLE, J. J.; DOYLE, J. L. Isolation of plant DNA from fresh tissue. **Focus**, v. 12, p. 13–15, 1987.
- EARL, D. A.; VONHOLDT, B. M. Structure harvester: a website and program for visualizing structure output and implementing the Evanno method. **Conservation Genetics Resources**, v. 4, p. 359–361, 2012.
- EVANNO, G.; REGNAUT, S.; GOUDET, J. Detecting the number of clusters of individuals using the software structure: a simulation study. **Molecular Ecology**, v. 14, p. 2611–2620, 2005.
- FRANKEL, O. H.; BROWN, A. H. D. Plant genetic resources today: a critical appraisal. In: HOLDEN, J. H. W.; WILLIAMS, J.T. (Ed.). **Crop genetic resources: conservation and evaluation**. London: Allen & Unwin, 1984. p. 249–257.
- GAITÁN-SOLÍS, E. et al. Microsatellite repeats in common bean (*Phaseolus*

vulgaris L.): isolation, characterization, and cross-species amplification in *Phaseolus* ssp. **Crop Science**, v. 42, n. 6, p. 2128–2136, 2002.

GOMES, R. L. F. et al. A lima bean core collection based on molecular markers. **Scientia Agricola**, v. 77, n. 2, p. 1–8, 2020.

GOVINDARAJ, M.; VETRIVENTHAN, M.; SRINIVASAN, M. Importance of genetic diversity assessment in crop plants and its recent advances: an overview of its analytical perspectives. **Genetics Research International**, p. 1–14, 2015.

IPGRI. Descritores para *Phaseolus lunatus* (feijão-espadinho). **International Plant Genetic Resources Institute**, Rome: 2001. 51p.

KUMAR, S. et al. Utilization of molecular, phenotypic, and geographical diversity to develop compact composite core collection in the oilseed crop, safflower (*Carthamus tinctorius* L.) through maximization strategy. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, p. 1–14, 2016.

MAHMOODI, R. et al. Development of a core collection in Iranian walnut (*Juglans regia* L.) germplasm using the phenotypic diversity. **Scientia Horticulturae**, v. 249, p. 439–448, 2019.

MARTINS, F. A.; SILVA, D. J. H.; CARNEIRO, P. C. S. Establishing a core collection from the integration of morphoagronomical, phytopathological and molecular data. **Revista Ciencia Agronomica**, v. 46, n. 4, p. 836–845, 2015.

NASCIMENTO, H. L. et al. Selection of representative genotypes of lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) from Brasil. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, v. 61, p. 201–202, 2018.

OLIVEIRA, M. F. et al. Establishing a soybean germplasm core collection. **Field Crops Research**, v. 119, p. 277–289, 2010.

PEAKALL, R.; SMOUSE, P. E. GenAIEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research - an update. **Bioinformatics**, Oxford, v. 28, n. 19, p. 2537–2539, 2012.

PENHA, J. S. **Diversidade genética, domesticação e plasticidade fenotípica de feijão- fava (*Phaseolus lunatus* L.)**. 2018. 85p. Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz – Universidade de São Paulo, 2018.

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

ROGERS, J. S. **Measures of genetic similarity and genetic distance**. In: Studies in genetics VII. University of Texas, Austin, TX, USA, 1972.

SEIDU, K. T.; OSUNDAHUNSI, O. F. OSAMUDIAMEN, P. M. Nutrients assessment of some lima bean varieties grown in southwest Nigeria. **International Food Research Journal**, v. 25, n. 2, p. 848–853, 2018.

SILVA, R. N. O. et al. Phenotypic diversity in lima bean landraces cultivated in Brazil, using the Ward-MLM strategy. **Chilean Journal of Agricultural Research**, v. 77, n. 1, p. 35–40, 2017.

SNEDECOR, G. W.; COCHRAN, W. G. **Statistical Methods**. 7.ed. Ames: Iowa State University, 1980. 507 p.

TAMURA, K. et al. MEGA6: Molecular evolutionary genetics analysis version 6.0.

Molecular Biology and Evolution, v. 30, n. 12, p. 2725–2729, 2013.

TANABATA, T. et al. SmartGrain: High-throughput phenotyping software for measuring seed shape through image analysis. **Plant Physiology**, v. 160, n. 4, p. 1871–1880, 2012.

VAN HINTUM, T. J. L. et al. **Core collections of plant genetic resources**. Roma: IPGRI Technical Bulletin, 2000.

VASCONCELOS, E. S. et al. Estratégias de amostragem e estabelecimento de coleções nucleares. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 42, n. 4, p. 507–514, 2007.

VASCONCELOS, E. S. et al. Tamanho de coleção original, métodos de agrupamento e amostragem para obtenção de coleção nuclear de germoplasma. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 45, n. 12, p. 1448–1455, 2010.

XU, Y. et al. Developing a core collection of *Pyropia haitanensis* using simple sequence repeat markers. **Aquaculture**, v. 452, p. 351–356, 2016.

3 CONSIDERAÇÕES GERAIS

O emprego de dados moleculares em combinação com as observações fenotípicas aprimora o processo de avaliação dos recursos genéticos.

A Coleção Nuclear (CN) logarítmica (L) mostrou-se mais adequada para fins de conservação e deve ser considerada uma estratégia adotada com vistas a facilitar a utilização do Banco Ativo de Germoplasma de *Phaseolus* da Universidade Federal do Piauí (BGP - UFPI), pelos melhoristas.

O estabelecimento dessa Coleção Nuclear de feijão-fava não deve ser considerada como estática, em vez disso, deve ser dinâmica com a avaliação de novos acessos e informações adicionais quando disponíveis. Espera-se que a CN proposta fomente o uso dos recursos genéticos e a eficiência do Programa de Melhoramento de Feijão-fava realizado na UFPI e assim, contribua para o desenvolvimento das primeiras cultivares de feijão-fava no Brasil, demonstrando a importância dos recursos genéticos para a sociedade e justificando os investimentos que são feitos na sua manutenção dos bancos de germoplasma ao longo dos anos.

Após o estabelecimento da coleção nuclear, o desafio seguinte envolverá a sua manutenção. Várias decisões deverão ser tomadas, no sentido de aprimorar a conservação, regeneração, multiplicação e avaliação agrônômica dos acessos selecionados. A demanda por informações e sementes dos acessos que compõem a CN provavelmente será elevada. Por isso, procedimentos rotineiros para a regeneração e multiplicação deverão ser adotados, com práticas de isolamento de modo a minimizar a variação genética. Para utilização da CN, além das informações de dados de passaporte, caracterização e avaliação, necessário se faz a informatização e disponibilização para comunidade.

O estabelecimento da CN poderá servir de base para estudos sobre a própria representatividade da coleção em relação à variabilidade genética da espécie.

No presente estudo, a pequena amostragem de acessos cultivados e silvestres do centro de domesticação Andino dificultaram a obtenção de padrões claros para confirmar a hipótese de que o Brasil pode ser um centro de

diversidade da espécie. Logo, as atividades do BGP - UFPI devem priorizar intercâmbios de acessos de procedência Andina com as instituições parceiras.