

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ

Caracterização citogenética e morfológica de acessos de feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.) do banco de germoplasma da UFPI

Eugênia Cristina Nascimento Medeiros

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

Teresina

2017

Eugênia Cristina Nascimento Medeiros

Caracterização citogenética e morfológica de acessos de feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.) do banco de germoplasma da UFPI

Orientadora: Profa. Dr^a Lidiane de Lima Feitoza

Co-Orientadoras: Prof^a. Dr^a Ângela Celis de Almeida Lopes

Prof^a. Dr^a Regina Lúcia Ferreira Gomes

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

Teresina

2017

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

M488c Medeiros, Eugênia Cristina Nascimento
Caracterização citogenética e morfológica de acessos de
feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.) do banco de germoplasma
da UFPI / Eugênia Cristina Nascimento Medeiros - 2017.
69 f.: il.

Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento) –
Universidade Federal do Piauí, Teresina, 2017.

Orientação: Prof^a. Dr^a. Lidiane de Lima Feitoza

1. Caracterização de sementes 2. Análise cariotípica 3. Fluorocromos CMA e DAPI I. Título

CDD 582.046 7

Caracterização citogenética e morfológica de acessos de feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.) do banco de germoplasma da UFPI

Eugênia Cristina Nascimento Medeiros

Aprovada em 03/07/2017

Comissão julgadora:



Profa. Dra. Lidiane de Lima Feitoza – CCN/UFPI
(Orientadora)



Prof. Dr. Pedro Marcos de Almeida – UESPI



Dra. Verônica Brito da Silva – UENF

À DEUS,

Minha inesgotável fonte de fé, força, esperança e amor, que me proporciona maravilhosas realizações em minha vida.

Ofereço

Aos meus amados pais, Taumi (in memorian) e Luzinete, aos meus queridos irmãos, Tauari Neto, Maria Eugênia e Taumi Júnior, aos meus preciosos sobrinhos, Taumi, Elvimar Filho, Talita, Eduarda e João Emanuel e ao meu amor João Manoel que me ensinam diariamente o verdadeiro significado das palavras amor e família.

Dedico

AGRADECIMENTOS

À DEUS, Pai misericordioso, que nos momentos mais difíceis da minha caminhada, me acolheu com seu amor e cuidado, sendo o meu refúgio e fazendo com que a minha fé, esperança e gratidão fossem os sentimentos mais verdadeiros existentes em mim.

À Nossa Senhora, que aos pés da Cruz me foi dada como Mãe, por interceder a Deus por mim, ouvir e atender as minhas orações e por estar sempre a minha frente, abrindo os meus caminhos e cuidando de mim e dos meus com muito amor.

À Universidade Federal do Piauí por me permitir realizar este curso de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento.

À Coordenação de aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudo.

À pesquisadora e orientadora Dra. Lidiane de Lima Feitoza por esses dois anos de orientação, dedicação, conhecimento transmitido e exemplo ao longo deste trabalho.

Às pesquisadoras e co-orientadoras Dra. Ângela Celis de Almeida Lopes e Dra. Regina Lúcia Ferreira Gomes por me permitirem a realização desta pesquisa, fazendo-me participar do grupo Feijão-fava, fornecendo-me os acessos e sendo sempre atenciosas, respeitáveis e solícitas comigo.

Ao professor Dr. Pedro Marcos Almeida (UESPI) por toda sua contribuição para que este trabalho se tornasse cada vez melhor, por sua disponibilidade e atenção de sempre.

À Dra. Verônica Brito da Silva por sua contribuição para o desenvolvimento deste trabalho com observações valiosas, sendo exemplo de educação e humildade.

À todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento por todos os ensinamentos, conhecimento compartilhado, e dedicação para a minha formação acadêmica.

À minha amada família: ao meu pai, Taumi (*in memoriam*), que tanto sonhou com essa conquista e que me deu os conselhos mais certos que ouvi na vida. Obrigada por tudo: estudos, nossa família, por ser meu exemplo, meu herói, meu pai e por hoje ser a minha estrela e juntos sermos um. À minha Mãe Luzinete por juntar minhas mãos quando ainda eram bem pequenas e ter me dito que havia um Deus que era o Papai do céu e que é Pai. Obrigada por ser meu exemplo de mulher, forte e temente a Deus, ensinando-me sempre o poder da Fé, por seu imensurável amor

e sua certeza das minhas vitórias. Aos meus irmãos e padrinhos Tauari Neto e Maria Eugênia e ao meu irmão e segundo pai Taumi Junior por serem os melhores amigos que eu poderia ter na vida. Obrigada pelo apoio, por acreditarem que esse sonho se tornaria real e por toda dedicação a mim. Aos meus sobrinhos, minhas bênçãos: Taumi, Elvimar Filho, Talita, Eduarda e João Emanuel. Obrigada por tanto amor. Ao meu namorado e amor João Manoel por ter sido minha família, por ser em uma única pessoa o meu amor, meu amigo e meu companheiro. Obrigada pela paciência extrema, apoio e amor.

Aos colegas do Laboratório de Sementes da UFPI: Jéssica Lustosa, Rafael Almeida, Antônia Batista e Joelto que sempre me receberam com tanta simpatia e alegria, por toda disponibilidade em me ajudar no que foi preciso.

Ao César, secretário do PPGM, por sempre esclarecer as minhas dúvidas e ser sempre gentil e solícito com todos os alunos.

À minha turma de mestrado: Jéssica, Eliene, Fernanda, Raquel, Yeda, Marilha e Pedro por todos os momentos compartilhados e por serem tão especiais e amigos queridos que levarei por toda a minha vida.

Aos meus queridos amigos do Laboratório de Recursos Genéticos Vegetais: Bruninha, Yago, Bruno, Lívia, Bruna Rodrigues, Nice, Thales, Michelle, Luciano, Junior e Sara. Pelos ensinamentos e por se dedicarem a mim, pelos momentos alegres e pelas palavras de conforto e perseverança que me foram ditas.

As funcionárias do bloco da Biologia: Dona Matelícia, Renata e Luverci (Lú) pelas conversas e palavras amigas ditas a mim e pelo zelo e cuidado à Biologia.

Aos amigos conquistados na graduação durante o curso de Biologia no IFPI: Sebastiana, Ícaro, Jackson, Nayana, Paula, Jéssica, Joseane, Roseane, Alane e Sandrielle. Obrigada por torcerem por mim e pela amizade de sempre.

Aos professores e amigos do IFPI: Divamélia, Nelson, Borges, Williams, Victor, Ivanaldo e Marlúcia por me iniciarem na pesquisa científica e por serem exemplos de profissionais e pessoas.

As minhas amigas de infância: Ana Paula, Aliny, Jéssica e Markennya por torcerem por mim em todos os momentos e por fazer com que a distância não destruísse a nossa amizade e ao meu amado afilhado Victor Emanuel. Aos meus vizinhos e amigos Hellen, Paulo e em especial a Sophia por todo carinho e amizade de sempre. A todos que de alguma forma contribuíram para que este trabalho se concretizasse. *Muito obrigada!*

*“Ora, a fé é a certeza daquilo que esperamos e a prova das coisas que não vemos.”
(Hebreus 11:11)*

SUMÁRIO

Resumo.....	9
Abstract.....	10
Lista de figuras.....	11
Lista de tabelas	12
Lista de abreviaturas e siglas	13
1. Introdução.....	14
2. Revisão bibliográfica	16
2.1 O gênero <i>Phaseolus</i>	16
2.2 A espécie <i>Phaseolus lunatus L.</i>	17
2.2.1 Importância socioeconômica.....	18
2.2.2 Centro de origem, dispersão e diversidade do gênero <i>Phaseolus</i>	20
2.3 Conservação dos recursos genéticos vegetais e bancos de germoplasma 21	
2.4 Caracterização citogenética e evolução cromossômica do gênero <i>Phaseolus</i>	24
2.5 Caracterização Morfológica.....	31
3. MATERIAL E MÉTODOS	33
3.1 Caracterização da área de estudo	33
3.2 Germinação.....	35
3.3 Pré-tratamento e fixação das células	35
3.4 Coloração convencional com Giemsa.....	36
3.5 Bandeamento com fluorocromos CMA e DAPI.....	36
3.6 Fotodocumentação e morfometria	37
3.7 Caracterização morfológica da semente.....	37
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	40

4.1	Caracterização citogenética com Giemsa confirma estabilidade cariotípica nos acessos de <i>Phaseolus lunatus</i> L. do BAG-UFPI	40
4.2	Dupla coloração com fluorocromos CMA e DAPI revela regiões pericentroméricas e terminais ricas em GC nos acessos	44
4.3	Diversidade genética por meio de características morfológicas das sementes	50
5.	Conclusões	56
6.	Referências Bibliográficas	57

RESUMO

MEDEIROS, E. C. N. **Caracterização citogenética e morfológica de acessos de feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.) do banco de germoplasma da UFPI.** 64p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento) – UFPI, Teresina, 2017.

O presente trabalho teve como objetivo caracterizar citogeneticamente diferentes acessos da espécie *P. lunatus* L. (feijão-fava) provenientes do Banco de Germoplasma da Universidade Federal do Piauí (BAG-UFPI) e classificar as sementes, dos mesmos acessos, morfológicamente quanto ao seu local de origem (Batata, Sieva ou Grande Lima). As análises citológicas basearam-se nas técnicas de coloração convencional com Giemsa e no bandeamento com os fluorocromos CMA e DAPI. A caracterização das sementes foi feita com base no comprimento, largura, espessura e peso das mesmas. Todos os acessos de feijão-fava apresentaram um conjunto cromossômico com $2n=22$, tamanho cromossômico variando de 0,85 a 3,14 μm e fórmulas cariotípicas com 11M, 10M + 1SM, 9M + 2SM, 8M + 3SM, 6M + 5SM e 7M + 4SM reforçando e corroborando com sugestões prévias de estabilidade cariotípica. Em todos os acessos, foram encontrados blocos de heterocromatina pericentromérica, além de pelo menos dois blocos de HC (heterocromatina) CMA terminal correspondentes aos locais flanqueadores de regiões organizadoras de nucléolo (RONs). As bandas de CMA apresentaram brilho e intensidades diferentes e geraram diversas fórmulas quanto à marcação CMA/DAPI, o que permitiu estabelecer uma relação entre o padrão de coloração e a possível classificação das sementes. Nas sementes “Grande Lima” predominaram as fórmulas $22\text{CMA}^{++}/\text{DAPI}^-$ e $22\text{CMA}/\text{DAPI}^-$, enquanto as sementes “Sieva” tiveram as fórmulas $20\text{CMA}/\text{DAPI}^-/2\text{CMA}^{++}/\text{DAPI}^-$ e $20\text{CMA}/\text{DAPI}^-/2\text{CMA}^+/\text{DAPI}^-$ e “Batata” tiveram as fórmulas $20\text{CMA}/\text{DAPI}^-/2\text{CMA}^+/\text{DAPI}^-$ e $20\text{CMA}/\text{DAPI}^-/2\text{CMA}^{++}/\text{DAPI}^-$. A caracterização das sementes sugere que no BAG-UFPI há representantes dos dois grupos: andino e mesoamericano, com predominância de sementes pertencentes ao grupo “Grande Lima” (14 acessos). Características citológicas como número, tamanho cromossômico e padrão de bandas de HC sugere que todos os acessos compartilham um ancestral comum. O estudo do germoplasma do feijão-fava é importante para o conhecimento da diversidade do grupo e pode gerar informações úteis para programas de melhoramento de *P. lunatus* visando à conservação dos recursos genéticos vegetais e um maior entendimento sobre a espécie e o gênero.

Palavras-Chave: Análise cariotípica, fluorocromos CMA e DAPI e caracterização das sementes.

ABSTRACT

MEDEIROS, E. C. N. **Cytogenetics and morphological characterization of bean lima (*Phaseolus lunatus* L.) accesses from the germplasm bank of the UFPI.**

64p. Dissertation (Master in Genetics and Breeding) - UFPI, Teresina, 2017

The objective of this work was to characterize cytogenetically different accesses of the *Phaseolus lunatus* L. species (lima bean) from the germplasm bank of the Federal University of Piauí (BAG - UFPI) and to classify the seeds of the same accesses, morphologically. Cytological analyzes were based on conventional staining techniques with Giemsa and on the banding with the fluorochromes CMA and DAPI. The characterization of the seeds was based on the length, width, thickness and weight. All lima bean accesses presented a chromosomal set with $2n = 22$, chromosome size ranging from 0.85 to 3,14 μm and karyotypic formulas with 11M, 10M + 1SM and 9M + 2SM, reinforcing and corroborating with previous suggestions that this group have a strong karyotypic stability. In all accesses, blocks of pericentromeric heterochromatin were found, in addition to at least two blocks of HC (heterochromatin) terminal CMA corresponding to NORs. The CMA bands presented different brightness and intensity and generated several formulas from the CMA/DAPI marking, which allowed establishing a relationship between the staining pattern and the possible classification of the seeds. In the "Big Lima" seeds, formulas predominated was the $22\text{CMA}^{++}/\text{DAPI}^{-}$ and $22\text{CMA}/\text{DAPI}^{-}$, while the "Sieva" seeds had the formulas $20\text{CMA}/\text{DAPI}^{-}/2\text{CMA}^{++}/\text{DAPI}^{-}$ and $20\text{CMA}/\text{DAPI}^{-}/2\text{CMA}^{+}/\text{DAPI}^{-}$ and "Potato" seeds presented the formulas $20\text{CMA}/\text{DAPI}^{-}/2\text{CMA}^{+}/\text{DAPI}^{-}$ and $20\text{CMA}/\text{DAPI}^{-}/2\text{CMA}^{++}/\text{DAPI}^{-}$. The characterization of the seeds suggests that in the BAG-UFPI there are representatives of the two groups: Andean and Mesoamerican, according to Mackie, although with majorly seeds belonging to the "Big Lima" group (14 accessions). Cytological features such as number, chromosome size and pattern of HC bands suggest that all accesses share a common ancestor. The study of the lima bean germplasm is important for the knowledge of the group diversity and can generate useful information for breeding programs of the *P. lunatus* species aiming at the conservation of the vegetal genetic resources and a greater understanding on the species and the genus.

Key words: Karyotypic analysis, CMA and DAPI fluorochromes and seed characterization.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** – Distribuição geográfica de 21 acessos de feijão-fava (*Phaseolus lunatus*).
..... 35
- Figura 2** - Imagens de acessos de feijão-fava (*Phaseolus lunatus*) utilizados no estudo..... 39
- Figura 3** - Análise cariotípica em acessos de feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.) através da técnica de coloração convencional com Giemsa. 43
- Figura 4** - Dupla coloração CMA/DAPI em acessos de feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.). Setas indicam blocos de CMA marcando a região pericentromérica dos cromossomos. Cabeças de seta indicam pequenos blocos CMA que podem estar associados com regiões organizadoras de nucléolo (RONs). 46
- Figura 5** -Idiograma representando o tamanho, morfologia e distribuição de bandas CMA nos cromossomo dos acessos de feijão-fava (*Phaseolus lunatus*) pertencentes ao BAG – UFPI. 47

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Área, produção e produtividade de feijão-fava nos principais estados produtores no ano de 2015.	19
Tabela 2 -	Número diploide, fórmula cariotípica e localização da heterocromatina CMA positiva no gênero <i>Phaseolus</i>	30
Tabela 3 -	Identificação de 21 acessos de feijão-fava (<i>Phaseolus lunatus</i>) provenientes do Banco Ativo de Germoplasma de Feijão-fava da Universidade Federal do Piauí (BAG-UFPI).....	34
Tabela 4 -	Número cromossômico diploide, intervalo do tamanho cromossômico (ITC), média da razão entre os braços do cromossomo (r), fórmula cariotípica (FC), comprimento total cromossômico (CTC), comprimento médio cromossômico (CMC), comprimento total do lote haploide (CTLH) e número de bandas CMA/DAPI (CMA ³ /DAPI). ++ representam bandas CMA mais fortemente coradas e bandas +, bandas CMA medianamente coradas e CMA/DAPI ⁻ , bandas fracamente coradas. 0 representa banda AT neutra e -, banda AT reduzida.	41
Tabela 5 -	Medição das sementes quanto ao comprimento, largura e espessura de 21 acessos de feijão-fava (<i>Phaseolus lunatus</i>) pertencentes ao Banco de Germoplasma de feijão-fava da Universidade Federal do Piauí (BAG – UFPI).....	51
Tabela 6 -	Classificação das sementes quanto à forma e perfil de 21 acessos de feijão-fava (<i>Phaseolus lunatus</i>) pertencentes ao Banco de Germoplasma de feijão-fava da Universidade Federal do Piauí (BAG – UFPI).....	52
Tabela 7 -	Classificação das sementes quanto ao peso de 100 sementes de 21 acessos de feijão-fava (<i>Phaseolus lunatus</i>) pertencentes ao Banco de Germoplasma de feijão-fava da Universidade Federal do Piauí (BAG – UFPI).....	53

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BAG	Banco ativo de germoplasma
CMA	Cromomicina A ₃
DAPI	4'-6-diamidino-2-fenilindol
AT	Adenina e timina
GC	Guanina e citosina
HC	Heterocromatina
FISH	Fluorescent <i>in situ</i> Hybridization
BAC	Bacterial Artificial Chromossomes
B.O.D	Biochemical Oxygen Demand

1. INTRODUÇÃO

O gênero *Phaseolus*, originário nas Américas, é uma leguminosa pertencente à família Fabaceae (Leguminosae) em que o feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.) destaca-se como a segunda espécie mais cultivada do gênero depois do feijão-comum (*Phaseolus vulgaris* L.). A diversidade genética do feijão-fava é organizada em pools gênicos e possui duas linhagens geográficas evolutivamente distintas: Montanhas Andinas da América do Sul e a região Mesoamericana, englobando o México e América Central (BAUDOIN et al., 2001).

Devido a sua elevada concentração de proteína, tal como a faseolina, o feijão-fava tornou-se um importante componente presente na dieta de muitos países, incluindo o Brasil. Sendo o feijão-fava tem grande importância social, econômica e cultural (DA SILVA; CHAVES FILHO; DE MELO, 2010)

No nordeste brasileiro, o cultivo do feijão-fava é uma importante fonte de renda para alguns estados nordestinos, onde embora a maior parte de sua produção seja para consumo próprio, uma parte é comercializada em feiras livres, sendo o cultivo de feijão-fava bastante praticado por famílias de baixa renda por ser uma fonte rica em nutrientes (BAUDOIN, 1988).

A importância econômica e social do feijão-fava está embasada na sua rusticidade, permitindo colheita prolongada, além disso, pode ser utilizado no consumo humano, na alimentação animal, adubo verde e como cultura de cobertura para proteção contra erosão do solo (DE AZEVEDO, 2003).

A caracterização morfológica é a primeira etapa realizada em bancos de germoplasma e é fundamental para conservação e melhoramento do material genético e para se conhecer a viabilidade de acessos que são depositados nas coleções, o que facilita o registro de caracteres de identificação (DE OLIVEIRA et al., 2010).

Além das informações geradas pelos dados morfológicos, moleculares e agrônômicos, a citogenética também tem sua importância como parte da caracterização de genótipos, visto que é possível por meio de diferentes técnicas de bandeamento cromossômico associadas à análise convencional a caracterização de diferentes grupos de plantas. Em conjunto, estas técnicas permitem o pareamento cromossômico e a montagem de cariótipos, em que cada par cromossômico

apresenta um padrão distinto e bem característico de bandas (GUERRA, 1988) além de permitir a realização da morfometria e a contagem cromossômica.

Considerando a importância da cultura e cultivo do feijão-fava para o mundo e em especial, para o nordeste do Brasil, o presente trabalho teve como objetivo realizar uma análise citogenética convencional com Giemsa e com fluorocromos CMA e DAPI para caracterização dos cariótipos de 21 acessos de feijão-fava (*P. lunatus*) pertencentes ao Banco Ativo de Germoplasma da Universidade Federal do Piauí (BAG – UFPI) e avaliar os grupos de origem dos mesmos com base na caracterização morfológica das sementes.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 O gênero *Phaseolus*

Em 1753, Linnaeus determinou em sua obra original a existência de onze espécies de *Phaseolus* que estariam distribuídas no Velho e no Novo mundo. O primeiro trabalho taxonômico foi realizado por Hooke em 1879 onde encontra-se a classificação de cerca de 15 espécies indianas do gênero *Phaseolus* (SARBHOY, 1977). No entanto, estudos posteriores determinaram que o gênero compreende cerca de 70 a 80 espécies (FREYTAG; DEBOUCK, 2002).

Phaseolus é um importante gênero da família Fabaceae (Leguminosae), a terceira maior família das angiospermas (JUDD et al., 2009), sendo cultivado nos trópicos, subtropicos e zonas temperadas dos Hemisférios Norte e Sul (DA SILVA e COSTA, 2003). Pertence a uma subtribo economicamente importante Phaseolinae (tribo Phaseoleae), possuindo mais de 80 espécies silvestres localizadas nas Américas (exceto Alaska, oeste e norte do Canadá, oeste dos EUA, Chile e sul da Argentina) do sudeste do Canadá, sudeste e sudoeste dos EUA, México, América Central, Índias Ocidentais e na maior parte do leste da América do Sul, em que pouco mais de 60 espécies encontra-se em terras altas mexicanas (DELGADO-SALINAS, 2014), sendo importantes economicamente na nutrição humana e animal, como forragem para gado e como plantas ornamentais.

De todas as espécies, originárias do continente americano somente cinco foram domesticadas e utilizadas para o cultivo: *Phaseolus vulgaris* L., *Phaseolus lunatus* L., *Phaseolus coccineus* L., *Phaseolus acutifolius* A. Gray e *Phaseolus dumosus* Macfadyen (DELGADO-SALINAS, 2014; GEPTS, 2014).

O feijão-comum (*P. vulgaris*) é cultivado em todo o mundo; o feijão-fava (*P. lunatus*) é uma espécie versátil que ocorre em florestas sazonalmente secas ou úmidas; o feijão ayocote (*P. coccineus*) possui belas flores, bem adaptado a ambientes frios temperados; o feijão tepari (*P. acutifolius* A. Gray) é bem adaptado para locais áridos; e o feijão-ano ou gordo (*Phaseolus dumosus* Macfadyen) é bem adaptado aos locais temperado-úmidos, localmente importantes para diferentes grupos humanos, porém ainda negligenciado (DELGADO-SALINAS, 2014).

Filogenicamente, *Phaseolus* é um gênero monofilético, determinado por caracterização molecular e morfológica (DELGADO-SALINAS, 2014). *P. vulgaris*

possui como parentes mesoamericanos mais próximos as espécies *P. dumosus* e *P. coccineus*, constituindo em conjunto o complexo "vulgaris", entretanto, dados de sequência do gene inibidor da α -amilase indicaram que *P. vulgaris* divergiu de *P. dumosus* e *P. coccineus* (BELLUCI et al., 2014).

2.2 A espécie *Phaseolus lunatus* L.

Phaseolus lunatus L. é conhecido popularmente como feijão-fava-de-manteiga, feijão-fava-de-Sieva, feijão-fava-de-lima, feijão-fava ou simplesmente fava e constitui uma das cinco espécies do gênero *Phaseolus* exploradas comercialmente por ser uma importante fonte de nutrientes para a maioria da população mundial (BAUDOIN, 1988) e pela sua capacidade de adaptação mais ampla que outras espécies do mesmo gênero em relação a climas quentes e úmidos (LYMMAN, 1983).

De acordo com Fonseca e Castro (1983), o feijão-fava é geralmente cultivado quando o cultivo de feijão-comum não pode ser realizado, sendo que em algumas regiões a fava é a única fonte de nutrientes para famílias de baixa renda. Seu tipo de crescimento pode ser determinado ou indeterminado e seu cultivo ocorre junto às cercas, muro ou telas de arame que dão sustentação às suas ramas, podendo encobrir toda a extensão de cerca.

O feijão-fava possui germinação epígea em que os seus cotilédones emergem acima da superfície do solo e suas folhas são geralmente mais escuras quando comparadas as demais espécies. Possuem vagens bastante compridas de forma geralmente oblonga e recurvada com duas alturas distintas, ventral e dorsal, e o seu número de sementes varia de duas a quatro. Caracteriza-se ainda por ser uma planta perene (ZIMMERMANN; TEIXEIRA, 1996), anual ou bianual, eretas, ou quase prostradas (ARTILLES; MATOS, 2004), trepadeira e que contém grãos comestíveis (DE AZEVEDO, 2003).

A adaptabilidade do feijão-fava a diversos ecossistemas é mais ampla que a do feijoeiro-comum, ainda que sua utilização seja relativamente menor, sendo esta característica atribuída a aspectos inerentes a cultura, como por exemplo, a habilidade de ser mais tolerante à seca, menos suscetível às enfermidades que são corriqueiras ao feijoeiro comum e ao fato dessa cultura se desenvolver bem em

regiões que apresentam climas tropicais quentes e úmidos (ZIMMERMANN e TEIXEIRA, 1996).

2.2.1 Importância socioeconômica

As leguminosas estão entre as mais importantes famílias de plantas, sendo excelente fonte de alimento, proporcionando 65% de proteína por dia em dietas humanas, funcionam como forragem para animais e tem uso amplo na cultura industrial. Entretanto, alguns fatores como a predação de insetos e doenças dificultam o melhoramento de espécies pertencente a essa família (WELSH, 2014).

Dentre as leguminosas cultivadas de *Phaseolus*, o feijão-fava destaca-se como a segunda espécie mais utilizada para o consumo humano, estando feijão-comum como primeira opção (MAQUET et al., 1999). Devido a sua elevada concentração de proteína, como a faseolina, o feijão-fava tornou-se um importante componente presente na dieta de muitos países, incluindo o Brasil (ALMEIDA, 2006).

O Brasil cresceu bastante no comércio internacional desde o final dos anos de 1990, tornando-se um dos líderes mundiais na produção e exportação de produtos agropecuários. Com isso o cultivo do feijão-fava tornou-se uma importante fonte de renda para alguns estados nordestinos brasileiros, onde embora a sua produção seja para consumo próprio na prática da cultura de subsistência, parte da produção é destinada a comercialização em feiras livres. Devido à rusticidade do cultivo em regiões semi-áridas do nordeste brasileiro, o feijão-fava tem uma grande importância para famílias mais carentes, possibilitando assim prolongar a sua colheita em período seco (DE AZEVEDO, 2003).

A capacidade de adaptar-se e conseguir desenvolver-se em regiões que apresentam déficit hídrico acentuado são características importantes pertencente à cultura do feijão-fava tornando o cultivo desta leguminosa na região Nordeste do Brasil mais favorável. O Ceará é o estado do nordeste brasileiro que apresenta a maior produção desta leguminosa, estando o Piauí em quarto lugar, podendo-se destacar ainda a existência do cultivo do feijão-fava nos estados de Minas Gerais e Rio Grande do Sul (IBGE, 2015) (Tabela 1). De acordo com dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE (2015) o Brasil possui produtividade de 217 kg/ha, onde a região Nordeste teve um rendimento médio de produção de 215

kg/ha, a região Sudeste obteve produtividade igual 143 kg/ha e a região Sul apresentou 1.926 kg/ha.

Tabela 1 - Área, produção e produtividade de feijão-fava nos principais estados produtores no ano de 2015.

Unidades das Federações Produtoras	Área (ha)		Produção (t)	Produtividade Kg ha ⁻¹
	Plantada	Colhida		
Maranhão	288	288	95	330
Piauí	2.207	1.855	316	170
Ceará	6.650	6.621	1483	224
Rio grande do Norte	1.309	293	84	287
Paraíba	8.254	7.180	1.439	200
Pernambuco	1.985	1.873	406	217
Alagoas	199	197	87	442
Sergipe	67	155	154	435
Minas Gerais	255	133	19	143
Rio Grande do Sul	27	27	52	1.926

Fonte: IBGE, 2015

O feijão-fava pode ser consumido na forma de grãos maduros ou imaturos e como vagens, necessitando-se para esta última situação uma colheita precoce, com até 2 meses depois do plantio da cultura. No Brasil os grãos de feijão-fava são cozidos antes de ser consumido devido seu gosto amargo causado pela presença do ácido cianídrico (VIEIRA et al., 1992). Dessa forma necessita-se que as sementes sejam submetidas a um maior tempo de cocção em comparação ao feijão-comum, por três a cinco vezes, com total substituição da água utilizada (DE AZEVEDO, 2003).

De acordo com Almeida (2006), *Phaseolus* tem recebido nos últimos anos uma relativa atenção no que se refere ao seu melhoramento genético visando aumentar o cultivo de feijão-fava em outras regiões e o desenvolvimento de cultivares que estejam cada vez mais de acordo com o interesse do mercado consumidor. As principais características de interesse avaliadas são: qualidade dos grãos, valor nutricional, concentração de sais e vitaminas, resistência a doenças e variabilidade genética. Além de ser consumido na dieta humana e como forragem para animal, é utilizado ainda como adubo verde e como cultura de cobertura para a proteção contra a erosão do solo (SILVA, 2010).

2.2.2 Centro de origem, dispersão e diversidade do gênero *Phaseolus*

Ao longo dos estudos sobre *Phaseolus* diversas teorias foram propostas para se estabelecer o seu centro de origem. Em 1883, De Candolle citado por Lopes et al. (2010), sugeriu uma origem Americana, considerando-se conhecimentos em taxonomia, fitogeografia e arqueologia, entre outros. Sabe-se ainda que as sementes de feijão-fava foram levadas pelos espanhóis por meio do Oceano Pacífico, para as Filipinas e, em seguida para a Ásia e também do Peru para Madagascar. Por intermédio do comércio de escravos, o feijão-fava foi levado do Brasil para a África (EVANS, 1980).

Para Esquivel et al (1990), a teoria de Mackie (1943) é mais completa, pois supõe que o feijão-fava é originário da Guatemala, de onde se dispersou em três direções, possivelmente seguindo as rotas de comércio:

1. Ramificação Hopi, seguindo para o norte, atingindo os Estados Unidos;
2. Ramificação Caribe, seguindo para o leste, atingindo as Antilhas e, daí, para o norte da América do Sul;
3. Ramificação Inca, seguindo para o sul, atingindo a Colômbia, Equador e Peru.

Dessa forma, o feijão-fava pode ser dividido em três grupos: Sieva – proveniente da ramificação Hopi; Batata – proveniente da ramificação Caribe; Grande lima – proveniente da ramificação Inca. O grupo Sieva caracteriza-se por apresentar variedades que são mais resistentes ao calor, conferindo-lhes uma maior dispersão em regiões como América do Norte, América do Sul, América Central e Ocidente. A forma de semente de batata são mais circulares e foi selecionada por criadores de plantas antigas. Já as sementes das variedades de grande lima são claramente maiores e geralmente possuem radiações mais distintas do hilo. (MACKIE, 1943).

Em 1935, Vavilov, citado por Maquet et al. (1999), considerou dois centros de origem para as formas cultivadas de feijão-fava: a) Centro Mesoamericano, para as formas cultivadas com sementes pequenas e; b) Centro Andino, para as formas com sementes grandes.

Estudos sobre diversidade de nucleotídeos no feijoeiro e a estruturação populacional na região da Mesoamérica indicaram origem mesoamericana para a cultura e que provavelmente tenha ocorrido no México, a partir de onde o feijoeiro se

expandiu para diversos continentes. Países e continentes como Brasil, China, Centro-Leste e Sul da África e Europa são considerados como centros secundários de diversificação para o feijoeiro (BELLUCI et al., 2014).

Dados arqueológicos relatam que a domesticação do feijoeiro aconteceu a cerca de 10.000 a. C, e que a disseminação dessa cultura foi favorecida pelas guerras, atingindo as regiões mais remotas do planeta, sendo considerado um dos alimentos mais antigos, não havendo dúvidas que a dispersão de *Phaseolus* ocorreu através da intervenção humana (MACKIE, 1943).

Características como a dormência (redução), dispersão de sementes (redução ou eliminação), hábito de crescimento (mais compacto), sensibilidade ao fotoperíodo (redução ou eliminação), tamanho das sementes (aumento), concentração de compostos tóxicos ou anti-nutricionais (reduzidos) e susceptibilidade a patógenos ou pragas foram fortemente alteradas como consequência das pressões de seleção de domesticação (GEPTS, 2014).

O conhecimento acerca do conjunto gênico de uma espécie possibilita a estruturação da diversidade genética, estimulando a sua utilização (DA SILVA; COSTA, 2003). O conjunto gênico do feijão-fava compreende espécies silvestres e domesticadas (BAUDOIN et al., 2004) e é dividido em dois grupos principais, o Mesoamericano e Andino, e um pequeno grupo contendo genótipos com características intermediárias (CAICEDO et al., 1999; LIOI; GALASSO, 2002).

Adicionalmente, existem dois principais genes pools Mesoamericanos (MI e MII) que são geograficamente e geneticamente distintos, em que foi mostrada também a possibilidade da existência de dois subgrupos em MI, chamados de MIa e MIb (ANDUEZA-NOH et al., 2013; MARTÍNEZ-CASTILLO, et al., 2014).

O Gene pool Andino pode ser considerado ancestral ao MII, que por sua vez divergiram para formar MI. Assim, os acessos MII estariam mais relacionados aos acessos Andinos e MI seria mais derivado que MII, embora o estudo da diversidade genética mostre níveis muito similares de diversidade nestes dois *pools* gênicos (ANDUEZA-NOH et al., 2013; MARTÍNEZ-CASTILLO, et al., 2014).

2.3 Conservação dos recursos genéticos vegetais e bancos de germoplasma

Recursos genéticos correspondem à diversidade de espécies vegetais, animais e de microorganismos existentes na natureza e que possuem valor

econômico e social que pode ser utilizado em programas de melhoramento genético, biotecnologia e demais áreas afins (VALOIS, 2004). Os recursos genéticos vegetais são utilizados de diferentes formas, como por exemplo, combustível, vestuário, medicamentos e habitação podendo ser organizados e disponibilizados no Brasil em coleções ou bancos de germoplasma (MARTINS NETTO, 2010).

A conservação dos recursos genéticos vegetais pode ser realizada de duas maneiras: *in situ* ou *ex situ*. A conservação do germoplasma *in situ* ocorre quando uma determinada espécie é mantida no seu local de origem, em contrapartida, a conservação de germoplasma é considerada *ex situ* em que as amostras do material genético são mantidas em ambientes diferentes do local em que foram coletados (MARTINS NETTO, 2010), ou seja, em bancos de germoplasma.

Germoplasma é a fonte de variabilidade genética disponível para o melhoramento de plantas, tendo diante disso a necessidade de caracterização do material genético para que se realize a conservação dos recursos genéticos. Banco de germoplasma refere-se ao local em que o material genético de espécies de interesse é armazenado, oriundos de diversas regiões geográficas e ambientais e que constitui o principal elemento de estudo para programas de melhoramento (RAMALHO *et al.*, 2004).

De acordo com Teixeira *et al.* (2005), a criação de bancos de germoplasma tem o intuito de preservar a variabilidade genética de diversas espécies. Dessa forma, o conhecimento sobre a variabilidade genética de uma espécie de interesse, seja ele agrônomo e/ou econômico, é beneficiado pela caracterização morfológica da espécie em estudo, visto que tal conhecimento auxilia na caracterização do germoplasma e contribui para o conhecimento da divergência genética existente entre os diferentes acessos. Técnicas de biologia molecular e citogenética têm auxiliado consideravelmente na caracterização dessas espécies (GUIMARÃES *et al.*, 2007).

Variedades uniformes são exigidas pelo mercado consumidor na agricultura moderna, entretanto, espécies de interesse econômico necessitam ter variabilidade genética, pois a sua ausência pode levá-las a extinção (RODRIGUES *et al.*, 2002).

Programas de melhoramento de feijão-fava visam obter cultivares que apresentem alta produtividade, que seja resistente a pragas e doenças, apresentando características que sejam aceitas pelos consumidores. Dessa forma podem-se utilizar métodos, tais como, introduzir novas cultivares, selecionar em

população constituída por uma mistura de linhagens puras e realizar hibridização com as gerações segregantes (RAMALHO; DOS SANTOS, 1982).

Existem alguns países que possuem bancos de germoplasma de feijão-fava, como por exemplo, Brasil, México, Colômbia (CIAT) e principalmente nos Estados Unidos. No Brasil, o Banco Ativo de Germoplasma de feijão-fava é mantido pela Embrapa e coordenada pela Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. O BAG – Feijão-fava é responsável por inserir, coletar, armazenar em condições controladas (*ex situ*), multiplicar, avaliar e caracterizar os genótipos oriundos de institutos de pesquisas ou coletas, atendendo pedido dos pesquisadores. Para isso, o BAG-Feijão-fava realiza as seguintes atividades: introdução dos acessos, expedições de coletas, conservação, multiplicação e regeneração, controle de qualidade, caracterização e avaliação, intercâmbio, documentação e arquivamento dos dados do material genético (GUSMÃO et al., 2008).

Em 2005 a Universidade Federal do Piauí (UFPI) implantou um Banco Ativo de Germoplasma de Feijão-fava (BAG – UFPI) que está localizado no Laboratório de Recursos Genéticos Vegetais, no departamento de Fitotecnia. Na sua implantação, o banco de germoplasma contava com 211 acessos de feijão-fava oriundos de comunidades locais, feiras e mercados do Piauí, Maranhão, Bahia e Pernambuco mediante a aquisição de variedades crioulas da espécie. Atualmente, o banco de germoplasma está localizado no Laboratório de Sementes, no departamento da Fitotecnia na UFPI e dispõe de 1.221 acessos de feijão-fava, sendo possível encontrar amostras de diferentes estados brasileiros e inclusive do exterior, como por exemplo, do México. No departamento San Martín, no Peru é possível coletar amostras de material genético para fins de coleção germoplasma (BASURTO et al., 2005). Nos dias atuais, o germoplasma de *Phaseolus* é bastante preservado ao redor do mundo, sendo o NPGS (National Plant Service de Germoplasma, Estados Unidos) e os 11 centros do CGIAR (Grupo Consultivo para a Investigação Agrícola Internacional) que detêm as maiores coleções de germoplasma do gênero (WELSH, 2014).

Segundo estudos de Knudsen (2000) e de acordo com os dados do Internacional Institute of Plant Genetic Resources (IPIGRI), atualmente denominado Bioversity International pode-se encontrar bancos de germoplasma de *Phaseolus lunatus* nas seguintes instituições: Estación Experimental Agropecuaria Salta - INTA (Argentina), Instituto de Investigación Agrícolas “El Vallecito” – Universidad

Autónoma Gabriel René Moreno (Bolívia), Departamento de Fitotecnia – Universidade Federal de Viçosa – UFV (Brasil), EMBRAPA – Centro Nacional de Pesquisa de Recursos Genéticos e Biotecnologia – CENARGEN (Brasil), Facultad de Ciencias Agrarias – Universidad Austral de Chile (Chile), Centro Internacional de Agricultura Tropical – CIAT (Colômbia), Centro Agronômico Tropical de Investigación y Enseñanza – CATIE (Costa Rica), Universidad de Costa Rica – UCR – Escuela de Biología (Costa Rica), Instituto de Investigaciones Fundamentales em Agricultura Tropical – INIFAT- (Cuba), Estación Experimental Portoviejo – INIAP- (Ecuador), Centro Universitario de Sur Occidente – CUNSUROC – Universidade de San Carlos (Guatemala), Ciencias Agropecuárias – Instituto de Ecologia Aplicada de Guerrero – INEAGRO – (México), Universidad Autónoma Chapingo (México), Estación Experimental Agropecuaria La Molina – INIA – PRONAGERB – (Perú), Universidad Nacional Agraria La Molina (Perú), Universidad Nacional Hermilio Valdizan (UNHEVAL - Perú).

2.4 Caracterização citogenética e evolução cromossômica do gênero *Phaseolus*

A análise citogenética tem grande importância quando se pretende avaliar o grau de parentesco entre espécies, sendo fundamental em trabalhos em que se deseja realizar a caracterização de genótipos em bancos de germoplasma. Além do mais, informações citogenéticas aliadas às técnicas moleculares/citomoleculares dá origem a uma linha de pesquisa recente chamada “citofilogenia” e os dados gerados por esta sobreposição são bastante informativos quando se pretende estabelecer relações filogenéticas entre espécies (STACE, 2000; SOUZA et al., 2016).

As técnicas de observação de cromossomos podem ser divididas em convencionais, em que se tem uma coloração mais rápida e bem definida, utilizando-se corantes acéticos ou Giemsa no estudo da morfologia e número do cariótipo e coloração diferencial até uso de sondas com fluorocromos, possibilitando a identificação de regiões mais específicas de DNA e até de genes (GUERRA; SOUZA, 2002). Assim, temos as técnicas utilizadas para a observação de cromossomos, no caso a coloração convencional, o bandeamento C-Giemsa, a coloração com fluorocromos e a Hibridização *in situ* fluorescente (Fluorescent *in situ* hybridization-FISH), que permite desde a visualização de um cromossomo inteiro à

regiões específicas, como telômeros e centrômeros, e até mesmo genes cópia única.

A análise de cromossomos mitóticos é geralmente realizada por meio da coloração convencional. Nesta técnica os cromossomos são corados como um todo, sem preferências por regiões específicas da cromatina, com intuito de analisar a morfologia e o número do conjunto cromossômico, podendo em algumas situações detectar a constrição secundária dos mesmos. A vantagem da utilização da coloração convencional é a possibilidade de um rápido resultado e uma coloração bem definida dos cromossomos, o que permite a fácil reprodução desta técnica (GUERRA; SOUZA, 2002).

As primeiras análises cromossômicas de *Phaseolus* foram realizadas em 1925 por Karpetschenko, obtendo-se um total de $2n = 22$ para a maioria das espécies, tais como *P. acutifolius* A. Gray, *P. coccineus* L., *P. lunatus* L. e *P. vulgaris* L. (MERCADO-RUARO; DELGADO-SALINAS, 2000), ampliando os estudos na área da citogenética, em que foi estabelecido um número básico de cromossomos $n = 11$. Entretanto, há a possibilidade de se encontrar espécies de *Phaseolus* com número cromossômico variável, levando-se em consideração as diversas formas de hábitat, caracteres e hábitos em que os pertencentes deste gênero estejam inseridos (SARBHOY, 1977) como relatados por Mercado-Ruaro; Delgado-Salinas (1998) em um estudo onde foi analisado um total de dez espécies, no qual duas possuíam cariótipo $2n = 20$.

Estudos cromossômicos realizados previamente através da coloração convencional mostraram que os cromossomos de *Phaseolus* possuem tamanho pequeno (ZHENG, *et al.*, 1993; MERCADO-RUARO; DELGADO-SALINAS, 1998, 2000, 2009; MOSCONE *et al.*, 1999), podendo variar de 0,70 a 2,36 μm de comprimento (MERCADO-RUARO; DELGADO-SALINAS, 2009).

Cromossomos metacêntricos e submetacêntricos caracterizam o conjunto cromossômico encontrado em análises citogenéticas de *Phaseolus*, exceto da espécie *P. microcarpus* que possuem cromossomos exclusivamente metacêntricos (MERCADO-RUARO; DELGADO-SALINAS, 2009).

Moscone *et al.* (1999) ao aplicarem a técnica de FISH (Hibridização *in situ* fluorescente) com o intuito de mapear os genes DNAr 18S-25S em quatro espécies de *Phaseolus* e detalhar o padrão de distribuição de heterocromatina para trabalhos futuros de mapeamento molecular e citogenético no gênero, puderam confirmar o

pequeno tamanho dos cromossomos de *Phaseolus* e que o cariótipo é formado predominantemente por cromossomos metacêntricos

Diferentemente da coloração convencional, a coloração diferencial identifica partes específicas dos cromossomos, ou seja, um tipo específico de cromatina, tratando-se de técnicas que constituem os chamados bandeamentos cromossômicos. O bandeamento C-Giemsa permitiu a identificação da heterocromatina constitutiva em cromossomos metafásicos, em contrapartida a coloração com fluorocromos possibilitou a identificação da constituição bioquímica dos blocos heterocromáticos ao longo dos cromossomos (GUERRA FILHO, 1983; GUERRA; SOUZA, 2002). Dentre os fluorocromos bastante utilizados para este tipo de bandeamento cromossômico, tem-se a Cromomicina A₃ (CMA₃) que tem afinidade preferencialmente por regiões ricas em GC e 4', 6-diamidino-2-phenilindol (DAPI) que marca regiões ricas em AT.

A heterocromatina pode ser classificada como constitutiva ou facultativa e sua distribuição ao longo dos cromossomos tem reforçado a similaridade cariotípica em *Phaseolus* pela formação de blocos de CMA na região pericentromérica da maioria dos cromossomos (MOK; MOK, 1976; ZHENG, et al., 1991; ZHENG, et al., 1993). Além do mais, Zheng et al. (1991) aplicando o método de banda C para classificação taxonômica de seis espécies, sendo quatro do gênero *Phaseolus* e duas do gênero *Vigna*, encontrou uma pequena região satélite na extremidade distal dos braços curtos de um par de cromossomos de feijão-fava.

A heterocromatina constitutiva caracteriza-se por estar permanentemente condensada durante todo o ciclo celular e em todas as células do organismo; apresenta-se em forma de blocos localizados preferencialmente em regiões terminais e pericentroméricas dos cromossomos; a heterocromatina facultativa pode se apresentar como heterocromatina, estando condensada durante todo o ciclo celular, com replicação tardia e ausência de atividade gênica ou como eucromatina, distinguindo-se da heterocromatina constitutiva por estar presente em apenas um dos homólogos do par cromossômico, não se apresentar em forma de blocos, mas em todo o cromossomo (GUERRA, 1988).

Moscone et al. (1996) ao estudarem seis espécies cultivadas de *Capsicum*, observaram que todas as espécies apresentam cromatina constitutiva CMA⁺/DAPI⁻. Foi observado ainda um número variável de outras bandas distais menores e maiores, exceto em *C. annuum* var. *Annuum*, e uma banda intercalar. Na espécie *C.*

pubescens, foi visualizado uma banda terminal CMA⁰/DAPI⁺, ou seja, cromomicina neutra e DAPI brilhante.

Ao se estabelecer um estudo comparativo de mapas citogenéticos entre *P. vulgaris* e *P. lunatus* foram observadas regiões pericentroméricas ricas em blocos de heterocromatina CMA⁺/DAPI⁻ de diferentes tamanhos e intensidades, além disso, bandas de terminais puderam ser detectadas em um par de cromossomos, sendo frequentemente distendidas, correspondendo, assim, à região organizadora de nucléolos (NOR) (BONIFÁCIO et al, 2012).

Em estudos de análises cromossômicas, a hibridização *in situ* (HIS) foi utilizada pela primeira em 1969 por Gall e Pardue, tornando-se uma das técnicas citológicas mais valiosas. Com o aprofundamento de técnicas citogenéticas moleculares, a FISH (Fluorescent *in situ* Hybridization) tem sido extensamente aplicada na caracterização de espécies vegetais e animais por permitir a localização de sequências de DNA (genes ou sequências repetitivas) nos cromossomos. O princípio da técnica consiste no fato de que o DNA é formado por duas fitas complementares, as quais por meio de aquecimento podem ser facilmente separadas em fitas simples, ou desnaturadas, e em seguida renaturadas, voltando a ser fita dupla. Se no momento da renaturação do DNA houver uma sonda disponível em solução, as sondas competirão com as fitas de DNA cromossômico e poderão ser hibridizadas ao DNA alvo, ao invés da fita complementar original (GUERRA, 2004).

Os fragmentos de DNA ribossomal (DNAr) 18S e 25S (ou a unidade inteira, o DNAr 18S - 5,8S - 25S, chamada de DNAr 45S) e 5S são os mais utilizados, gerando marcadores úteis para a identificação cromossômica e proporcionando informações valiosas sobre as relações evolutivas e filogenéticas entre gêneros e espécies. Entretanto, tem-se sugerido uma proposta de mudança na denominação do DNAr 45S para DNAr 35S (18S, 5.8S e 25 / 28S) com base em uma nova medida de unidades de sedimentação (VOLKOV, 2007).

Os sítios de DNAr 5S e 45S são localizados por FISH, em diversos grupos vegetais, tais como em pteridófitas (MARCON et al., 2003; 2005); gimnospermas (JACOBS et al., 2000; LIU et al., 2003) e inúmeras angiospermas (PEDROSA-HARAND et al., 2006; SOUZA et al., 2009, 2010; FEITOZA et al., 2010; FEITOZA; GUERRA, 2011; BORGES et al., 2012) e apresenta uma ampla variação no número e localização conforme revisado extensivamente por Roa et al. (2012). Almeida;

Pedrosa-Harand (2010) encontraram em cromossomos de feijão-fava sítios de DNAr 45S e 5S que são homeólogos para os cromossomos 6 e 10 de *P. vulgaris*, respectivamente.

As sondas são derivadas a partir de fragmentos de DNA ou RNA que foram isolados, purificados e amplificados para uso. A localização dos genes de DNAr 5S e 45S em quatro espécies cultivadas e silvestres permitiu uma comparação mais detalhada dos cariótipos, entretanto, essas marcações não detectaram homologias claras entre feijão-fava e espécies relacionadas (MOSCONE et al., 1999). Portanto, DNAr-FISH tem sido usado como uma ferramenta para identificar e entender a organização cromossômica, analisar as relações filogenéticas e estudar a evolução cromossômica dentro e entre as espécies relacionadas (IWATA et al., 2013).

Moscone et al. (1999) ao aplicarem a técnica de FISH com o intuito de mapear os genes DNAr 18S-25S em quatro espécies de *Phaseolus* e detalhar o padrão de distribuição de heterocromatina para trabalhos futuros de mapeamento molecular e citogenético no gênero observaram também blocos na região terminal que provavelmente correspondem aos sítios de DNAr 45S vistos na hibridização *in situ*.

Fonseca et al. (2010) utilizaram a técnica de BAC-FISH para ampliar a análise do mapa cromossômico dos 8 pares restantes de cromossomos do feijoeiro. Os autores observaram que, ao se considerar as bandas CMA⁺ e DAPI⁻, após FISH como sendo sinais indicativos de heterocromatina constitutiva, cerca de 48% de DNA de feijão-comum é heterocromática e que além de ser enriquecida em seqüências repetitivas é também constituída por seqüências de cópia única e provavelmente por genes, já que os marcadores de cópia única estão presentes nas inserções de BAC mostrando distribuição de heterocromatina.

A fim de contribuir para a compreensão da evolução da fração repetitiva de rDNA em espécies de *Phaseolus*, Almeida e Pedrosa-Harand (2010) estabeleceram um mapa citogenético comparativo entre *P. vulgaris* e *P. lunatus* e determinaram a distribuição e variação dos sítios de DNAr 5S e 45S em 17 acessos de *P. lunatus* pertencentes a diferentes centros de domesticação. Os autores encontraram que todos os acessos utilizados na pesquisa apresentaram pelo menos 1 sítio de DNAr 5S e 45S, ao contrário do que se observa em *P. vulgaris*, que apresenta diversos sítios ao longo dos cromossomos. Quatro acessos cultivados (FA02, FA14, FA08 e FA15) apresentaram uma duplicação do sítio de rDNA 5S na região proximal do braço longo no mesmo cromossomo (10), podendo ser relacionada a uma possível

inversão pericentromérica. Além disso, os marcadores específicos de cromossomos permitiram identificar que os cromossomos de *P. lunatus* que transportam os sítios de DNAr 45S e 5S são homólogos aos cromossomos 6 e 10 de *P. vulgaris*.

Embora o feijão-fava e feijão-comum tenham uma ampla similaridade cariotípica, estudos revelaram que para *Phaseolus* a distribuição dos sítios 5S e especialmente o 45S DNAr são bastante diversificados (ALMEIDA; PEDROSA-HARAND, 2010).

Bonifácio et al (2012) realizaram uma análise comparativa do genoma de feijão-fava usando hibridação fluorescente *in situ* de clones de BAC previamente mapeados no feijoeiro. Os autores observaram que os BACs contendo repetições pericentroméricas apresentaram padrões muito semelhantes aos padrões de bandas CMA/DAPI, marcando todos os cromossomos e variando apenas em intensidade, com apenas uma exceção observada no cromossomo 6 que além da marcação pericentromérica apresentou uma banda CMA⁺ extra, que co-localizou com o DNAr 45S, na extremidade do braço curto, em que houve ausência de sinais BACs repetitivos.

Utilizando clones de BACs (BAC-FISH), previamente mapeados no feijoeiro, regiões heterocromáticas pericentroméricas ricas em CMA⁺/DAPI⁻, formando blocos de diferentes tamanhos e intensidades no foram encontradas no feijão-fava. Além disso, foram observadas ainda, em um dos pares de cromossomos, regiões frequentemente distendidas correspondendo à região organizadora do nucléolo (RON) (ALMEIDA; PEDROSA-HARAND, 2013). A ideia do trabalho foi detectar regiões cromossômicas homeólogas e mecanismos evolutivos que provavelmente moldaram esses cariótipos, como por exemplo, translocações e/ou inversões pericentroméricas.

Tabela 2 - Número diploide, fórmula cariotípica e localização da heterocromatina CMA positiva no gênero *Phaseolus*.

Nome da espécie	2n	Fórmula Cariotípica	Distribuição de Heterocromatina	Referência
<i>P. lunatus</i>	22	6M + 5SM	-	Karpetschenko em Mercado-Ruaro; Delgado-Salinas, 2000. Sarbhoy, 1997.
<i>P. lunatus</i>	22	11M	Telomérica	Mosconeet al., 1999
<i>P. lunatus</i>	22	-	Pericentromérica	Bonifácio et al, 2012
<i>P. lunatus</i>	22	-	Pericentromérica	Almeida; Pedrosa-Harand, 2013
<i>P. vulgaris</i>	22	8M + 3SM	-	Mosconeet al., 1999 Karpetschenko em Mercado-Ruaro; Delgado-Salinas, 2000.
<i>P. vulgaris</i> 'Saxa'	22	6M + 4SM + 1ST	Centromérica	Mosconeet al., 1999
<i>P. vulgaris</i> 'Wax'	22	7M + 4SM	Centromérica	Mosconeet al., 1999
<i>P. vulgaris</i>	-	-	Pericentromérica	Fonseca et al., 2010
<i>P. acutifolius</i>	22	5M + 6SM		Sarbhoy, 1977
<i>P. acutifolius</i> var. latifolius	22	10M + 1SM	Pericentromérica	Mosconeet al., 1999
<i>P. microcarpus</i>	22	11M	-	Mercado-Ruaro; Delgado-Salinas, 2009
<i>P. coccineus</i>	22	10 m + 1 sm	-	Mercado-Ruaro; Delgado-Salinas, 2009
<i>P. coccineus</i>	22	6M + 3SM + 2ST	Pericentromérica	Mosconeet al., 1999
<i>P. leptostachyus</i> Bentham	20	7M + 3SM	-	Mercado-Ruaro; Delgado-Salinas, 1998
<i>P. macvaughii</i> A.	20	9M + 1SM	-	Mercado-Ruaro; Delgado-Salinas, 1998

2.5 Caracterização Morfológica

A variabilidade genética pode ser obtida pela conservação de genótipos de interesse nos bancos de germoplasma, sendo possível a obtenção de espécies melhoradas no que se refere a aspectos como produtividade, qualidade de grãos, concentração de nutrientes, entre outros. O conhecimento sobre a variabilidade genética de uma espécie de interesse seja ele agrônômico e/ou econômico é beneficiado pela caracterização morfológica da espécie em estudo, visto que tal conhecimento auxilia na caracterização do germoplasma e contribui para o conhecimento da divergência genética existente entre os diferentes acessos (GUIMARÃES, 2007).

É a partir da morfologia das plantas incorporadas aos bancos de germoplasma que poderá ser realizado a descrição, identificação e diferenciação de acessos de uma mesma espécie e tais observações são realizados a partir de caracteres morfológicos, denominados descritores morfológicos (BURLE e DE OLIVEIRA, 2010). Conhecendo-se a morfologia da planta podem-se inferir quais são os genótipos mais favoráveis para a realização do melhoramento através do estudo dos caracteres que contribuem para a diversificação genética dos genótipos (COELHO et al., 2010).

De acordo com o Internacional Institute of Plant Genetic Resources - IPGRI (2001), sendo denominado atualmente por Bioversity International (www.bioversityinternational.org) os descritores morfológicos podem ser quantitativos ou qualitativos. Dentre os descritores que podem ser utilizados para a realização da caracterização morfológica tem-se o hábito de crescimento, período de florescimento, período de germinação, produtividade, comprimento e largura de vagens e de sementes, peso de 100 sementes, número de grãos por vagem, etc. Entretanto, sugere-se a utilização daquelas características que sejam mais representativas da amostra de forma que se utilize de dados que não sejam passíveis de dúvidas (BURLE e DE OLIVEIRA, 2010).

As características fenotípicas das plantas são bastante informativas para se realizar a seleção de amostras que apresentam caracteres vantajosos para o desenvolvimento de novas cultivares. O conjunto de atributos genéticos, físicos, fisiológicos e sanitários que influenciam na capacidade de originar uma lavoura constituída por plantas vigorosas e representativas da cultivar, livres de fatores que

possam comprometer a cultura são fundamentais para a qualidade das sementes (POPINIGIS, citado por BRAGANTINI, 1996). A qualidade das sementes tem sido atribuída à sua pureza física, elevado potencial genético, alta germinação e vigor, ausência de danos mecânicos, boa sanidade e uniformidade de tamanho (CANGUSSÚ et al., 2013).

Em um estudo de caracterização da diversidade genética em genótipos de feijão-fava crioulo realizado por Coelho et al. (2010) foi observado que o caráter mais informativo para o estudo referiu-se ao peso de 100 sementes, em que no ano 1 todos os genótipos do grupo I apresentaram sementes com peso igual ou inferior a 25,65 g e no grupo II todos os genótipos tiveram peso igual ou superior a 32,99 g. No ano 2 todos os genótipos do grupo I apresentaram peso de 100 sementes entre 36,27g a 43,64 g.

O banco de germoplasma de feijão-fava da UFPI permitiu a realização de vários trabalhos como o de Silva (2007) que caracterizaram 118 subamostras incorporadas ao BAG-UFPI, oriundas da Escola Família Agrícola do Soínho (EFA-Soínho), tomando-se por base os seguintes descritores morfológicos: cor de fundo da semente, cor padrão da semente, segunda cor padrão, padrão do tegumento da semente, forma da semente, comprimento da semente e largura da semente, verificando uma grande variabilidade entre as subamostras estudadas.

Sousa et al. (2015) utilizaram 24 acessos pertencentes ao BAG-UFPI de feijão-fava para estimar a diversidade genética com base em descritores morfoagronômicos. Verificaram o fato dos acessos apresentarem diferenças entre si, indicando variabilidade genética. Por exemplo, a característica peso de 100 variou de 103,00 (UFPI 666) a 101,53 g (UFPI 777), respectivamente e o acesso com menor média foi UFPI-777, com 21,1g.

Silva et al., (2017) avaliaram a diversidade genética de 166 acessos de feijão-fava com base em caracteres morfológicos e fenológicos, em que 157 acessos pertencem a coleção da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia e 9 acessos foram obtidos do Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT, Cali, Colômbia). Quanto ao caráter comprimento, largura e espessura as sementes avaliadas variaram de 8,43 a 22,53 mm, 6,59 mm a 14,17 mm e 3,52 a 7,32 mm, respectivamente, o que possibilitou a classificação quanto à forma e perfil das sementes, indicando a presença de variabilidade genética para as subamostras. Esses resultados permitiram a identificação da formação de três grupos de

indivíduos, em que o grupo I foi composto por 74 acessos com sementes pequenas, semi-achatadas e esféricas em que tais características eram semelhantes ao pool genético mesoamericano. O grupo II reuniu 90% dos acessos, sendo encontradas características de sementes de ambos os pools de genes, andino e mesoamericano. E o grupo III apresentou acessos com sementes predominantemente grandes, características semelhantes as do pool gênico andino.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Caracterização da área de estudo

Neste trabalho foram caracterizados cito- e morfologicamente 21 acessos de feijão-fava (*P. lunatus*) do Banco de Germoplasma da Universidade Federal do Piauí (BAG-UFPI), conforme descrito na tabela 3. As análises citológicas foram realizadas no Laboratório de Recursos Genéticos Vegetais, no Centro de Ciências Naturais (CCN), enquanto as análises morfológicas realizaram-se no Laboratório de Sementes (LaSem), no Centro de Ciências Agrárias (CCA), ambos localizados na Universidade Federal do Piauí. Foram utilizados acessos de feijão-fava coletados em cinco estados brasileiros (Piauí, Maranhão, Ceará, Paraíba e Tocantins). Ver tabela 3, figura 1.

Tabela 3 - Identificação de 21 acessos de feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.) provenientes do Banco Ativo de Germoplasma de Feijão-fava da Universidade Federal do Piauí (BAG-UFPI).

Nome Científico	Nº de identificação	Nome vulgar	Procedência
	UFPI 790	Branquinha	Teresina-PI
	UFPI 793	Fava branca	Buriti Bravo-MA
	UFPI 794	Boca de moça	Tanque-PI
	UFPI 795	Fava branca	Esperantina-PI
	UFPI 796	Fava branca	Riachão-MA
	UFPI 797	Fava branca	Riachão-MA
	UFPI 799	Fava branca	Nova Colina-MA
	UFPI 800	Fava branca	José De Freitas-PI
<i>Phaseolus lunatus</i> L.	UFPI 801	Fava branca	São Pedro-PI
	UFPI 803	Fava branca	Água Branca-PI
	UFPI 804	Boca de moça	Angical-PI
	UFPI 806	Boca de moça	Palmeiras-PI
	UFPI 807	Boca de moça	Amarante-PI
	UFPI 809	Fava branca	Angical-PI
	UFPI 810	Fava vermelha	Água Branca-PI
	UFPI 814	Orelha de vó	Remígio-PB
	UFPI 815	Fava branca	Picuí-PB
	UFPI 816	Rosinha	Remígio-PB
	UFPI 817	Cara larga	Remígio-PB
	UFPI 852	Fava branca	Palmas-TO
	UFPI 857	Fava preta	Campos Sales-CE

Fonte: BAG – UFPI – Banco Ativo de Germoplasma de feijão-fava da Universidade Federal do Piauí

A distribuição geográfica dos acessos foi visualizada com o auxílio do programa Qgis (Figura 1):

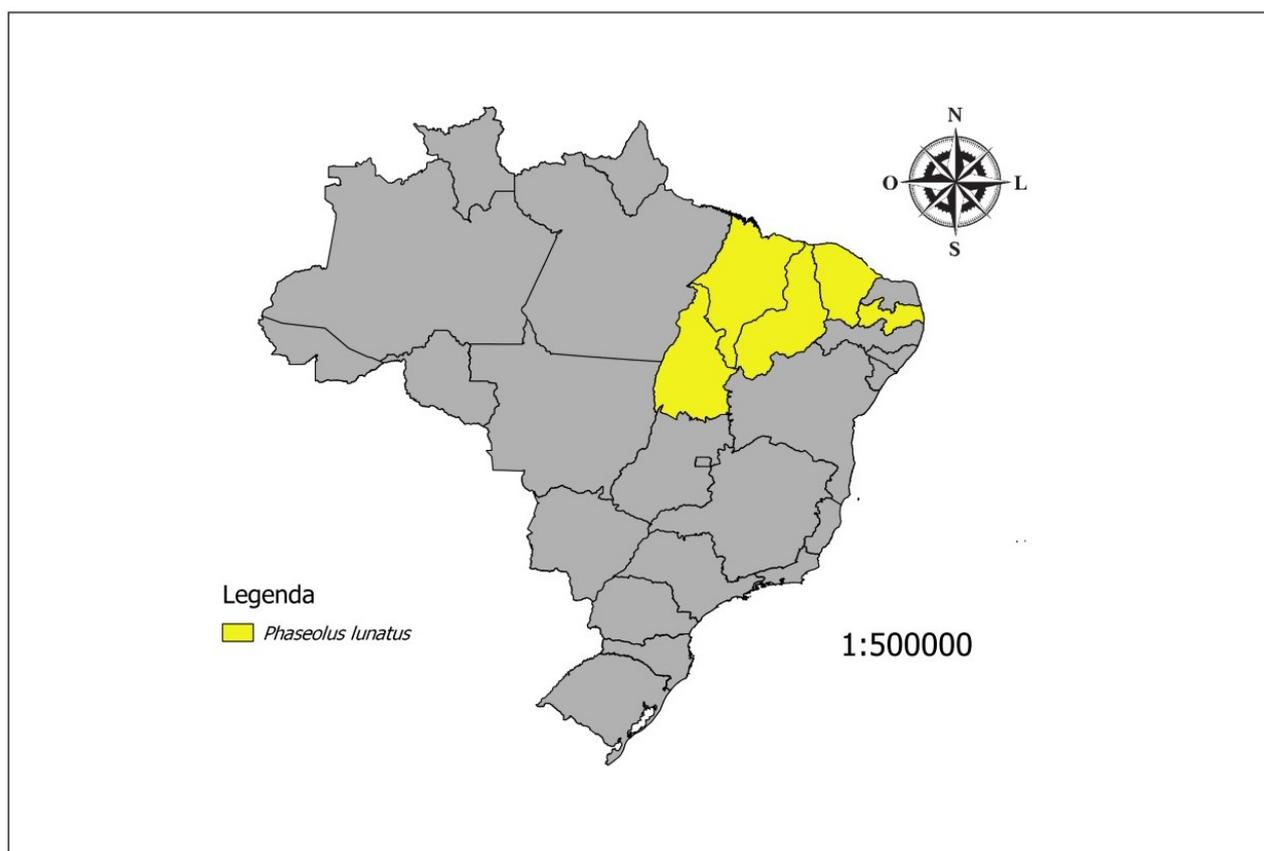


Figura 1 – Distribuição geográfica de 21 acessos de feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.).

3.2 Germinação

Com o intuito de diminuir a contaminação das sementes por ação fúngica, procedeu-se a lavagem com hipoclorito de sódio a 70% por 10s. Em seguida foram lavadas com água destilada por 10s e, embebidas em placa de Petri com papel-filtro e algodão umedecidos, permanecendo neste local até o surgimento do hipocótilo. Quando as raízes atingiram o tamanho adequado de aproximadamente 1 cm procedeu-se a coleta para a realização do pré- tratamento das mesmas com inibidor de fuso mitótico.

3.3 Pré-tratamento e fixação das células

Ao atingirem cerca de 1 cm, as radículas foram coletadas e pré-tratadas em solução de 8-hidroquinolina (0,002 M), por 18 horas na B.O.D à temperatura de cerca de 10° C. Em seguida, foram fixadas em solução Carnoy (etanol absoluto e

ácido acético glacial na proporção de 3:1 v/v), e estocadas em freezer a -20°C por 2 à 20 horas.

3.4 Coloração convencional com Giemsa

Após a fixação em Carnoy, as raízes foram lavadas em água destilada, hidrolisadas com HCL 5N por 20 minutos e novamente lavadas em água destilada. Um total de 7 lâminas por acesso foram preparadas destacando pontas das radículas, que foram maceradas em ácido acético glacial a 45%, com o auxílio de seringas e lupas, posteriormente cobertas com lamínula 20x20 mm e esmagadas levemente com o polegar. O conjunto lâmina/lamínula foi mergulhado em nitrogênio líquido por 3 minutos para a remoção das lamínulas e as lâminas foram secas ao ar. Logo após este procedimento foram coradas em solução de Giemsa a 2%, por 30 minutos e montadas com Entellan (Merck®) (GUERRA, 1983).

3.5 Bandeamento com fluorocromos CMA e DAPI

Para uma melhor visualização dos blocos heterocromáticos foi realizada a técnica de bandeamento com fluorocromos Cromomicina A₃ (CMA₃) e 4'-6-diamidino-2-fenilindol (DAPI), que seguiu o protocolo de Schweizer e Ambros (1994). Um total de 3 lâminas por cada acesso foram preparadas com as enzimas celulase 2% (Onozuka R-10) e pectinase 20% (Sigma), e envelhecidas por três dias. Em seguida procedeu-se a pré-seleção das lâminas para garantir a qualidade dos resultados. Dessa forma, as lâminas foram coradas com 10 µL do corante DAPI e as metáfases foram analisadas com o auxílio do microscópio de epifluorescência. As melhores lâminas foram descoradas e deixadas para envelhecer por 3 dias para que se pudesse realizar a coloração definitiva. Após o período de envelhecimento, as lâminas foram coradas com 10 µL de CMA (0,5 mg/ml) e mantidas no escuro em câmara úmida por uma hora. Após este período, foram lavadas com água destilada e seca com bomba de ar. Posteriormente foram coradas com 10 µL DAPI (2 µg/ml) por 30 minutos, lavadas, secas e montadas em tampão McIlvaine- glicerol (1:1 v/v).

3.6 Fotodocumentação e morfometria

Os resultados obtidos pela análise convencional foram fotografados por meio de tablet acoplado em microscópio óptico no Laboratório de Recursos Genéticos Vegetais, enquanto os resultados do bandeamento CMA/DAPI e da técnica de imunocoloração foram fotografados em câmera digital Leica DFC345Fx acoplada em microscópio de epifluorescência Leica DM2500, na Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). As imagens tiveram alteração de brilho e contraste no programa Adobe Photoshop com o suporte do Paint Shop Pro 5. Para a morfometria, foram utilizadas imagens de cinco metáfases bem espalhadas e com mesmo padrão de condensação da cromatina (REIS et al., 2015).

O tamanho dos cromossomos foi determinado por meio do programa Micromesure 3.3, complementado pelo Microsoft Excel 2010. Osidiogramas foram desenhados no programa Corel DRAW X7.

Com os cariótipos mensurados foi possível determinar os valores do intervalo do tamanho cromossômico (ITC), razão entre os braços longo e curto de cada par cromossômico ($r = BL/BC$), fórmula cariotípica (FC), comprimento total cromossômico ($CTC = BL + BC$), comprimento médio cromossômico (CMC) e comprimento total do lote haploide ($CTLH = \Sigma CT$) (GUERRA, 1988b).

3.7 Caracterização morfológica da semente

Para a realização a caracterização morfológica das sementes, foram realizadas mensurações acerca do comprimento, largura e espessura, sendo utilizadas 10 sementes tomadas ao acaso e as medições determinadas em milímetros com o auxílio de paquímetro digital conforme IPGRI (2001). Quanto ao peso, 100 sementes foram tomadas ao acaso e estabelecido o valor em gramas de acordo com Mackie (1943).

A forma da semente é baseada nos conceitos dos coeficientes J e H de Puerta Romero (1961) citado por Vilhordo (1996), em que:

$$J = \frac{\text{Comprimento}}{\text{Largura}} \qquad H = \frac{\text{Espessura}}{\text{Largura}}$$

Segundo o coeficiente J que é dado em milímetros (mm), as sementes podem ter as seguintes formas: esférica ($J = 1,16 - 1,42$), elíptica ($J = 1,43$ a $1,65$), oblonga ou reniforme curta ($J = 1,66$ a $1,85$), oblonga ou reniforme média ($J = 1,86$ a $2,00$) e oblonga ou reniforme longa ($J > 2,00$). De acordo com o coeficiente H (mm) as sementes podem ser classificadas em: achatada ($H < 0,69$), semi-achatada ($H = 0,70$ a $0,79$) e cheia ($H > 0,80$). Por fim, os valores obtidos pela medição de sementes foram submetidos ao teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.

Algumas das sementes utilizadas no estudo podem ser facilmente distinguíveis, entretanto, outros acessos possuem características bem semelhantes entre si (Figura 2):



Figura 2 - Imagens de acessos de feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.) utilizados no estudo. Barra = 2 cm.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Caracterização citogenética com Giemsa confirma estabilidade cariotípica nos acessos de *Phaseolus lunatus* L. do BAG-UFPI

A análise cariotípica, por meio da técnica de coloração convencional com Giemsa dos 21 acessos de feijão-fava permitiu uma descrição detalhada do número, morfologia e tamanho cromossômico (Tabela 4; Figura 3). Dessa forma, o número cromossômico encontrado em todos os acessos de feijão-fava estudados foi $2n=22$ (Tabela 4), sendo em sua maioria metacêntricos e simétricos e com cromossomos variando de $0,85\mu\text{m}$ (UFPI 790) a $3,14\mu\text{m}$ (UFPI 799), diferindo entre si apenas em relação ao comprimento e a posição do centrômero.

Os acessos foram classificados quanto a posição do centrômero, de forma que os mesmos podem ser metacêntricos (M), submetacêntricos (SB), acrocêntricos (AC) e telocêntricos (TC). Quanto a posição do centrômero os acessos UFPI 793, 794, 796, 799, 800, 801, 803, 807, 810 e 814 apresentaram fórmula cariotípica 11M, enquanto os acessos UFPI 790, 795, 804, 809, 852 e 857 apresentaram fórmula cariotípica $10M + 1SM$. Os acessos UFPI 797 e 806 apresentaram fórmula cariotípica $9M + 2SM$, enquanto os acessos UFPI 815, 816 e 817, apresentaram fórmula cariotípica $8M + 3SM$, $6M + 5SM$ e $7M + 4SM$, respectivamente. As fórmulas cariotípicas (Tabela 4) mostradas para estes acessos diferem rapidamente de fórmulas cariotípicas encontradas em outros estudos para espécies relacionadas, sendo constituídos em sua maioria por cromossomos metacêntricos (MERCADO-RUARO; DELGADO-SALINAS, 2009).

O número cromossômico é um parâmetro bastante útil quando aliado a outros caracteres citológicos, permitindo a delimitação e conhecimento a cerca da evolução de grupos taxonômicos (PEDROSA et al., 1999; 2009). Repetidamente tem sido observada uma forte estabilidade cariotípica no gênero *Phaseolus*, corroborando os primeiros estudos citológicos realizados por Karpetschenko, em 1925.

Esta estabilidade foi reforçada por Bonifácio et al., (2012) que além de identificar regiões homeólogas entre feijão-comum e feijão-fava, confirmaram o número cariotípico igual a $2n=22$ cromossomos, sendo em sua maioria formados por metacêntricos.

Tabela 4 - Número cromossômico diploide, intervalo do tamanho cromossômico (ITC), média da razão entre os braços do cromossomo (r), fórmula cariotípica (FC), comprimento total cromossômico (CTC), comprimento médio cromossômico (CMC), comprimento total do lote haploide (CTLH) e número de bandas CMA/DAPI (CMA³/DAPI) dos 21 acessos de feijão-fava pertencentes ao BAG-UFPI. ++ representam bandas CMA mais fortemente coradas e bandas +, bandas CMA medianamente coradas e CMA/DAPI-, bandas fracamente coradas. 0 representa banda AT neutra e -, banda AT reduzida.

Nome científico	Acesso	2n	ITC (μm)	r	FC	CTC (μm)	CMC (μm)	CTLH (μm)	CMA ₃ /DAPI
	UFPI 790	22	0,85 – 1,60	1,37	10 M + 1 SM	26,10	1,19	13,05	20 CMA ⁺ /DAPI- 2 CMA ⁺⁺ /DAPI-
	UFPI 793	22	1,31 – 2,14	1,26	11 M	38,22	1,74	19,11	20 CMA ⁺ /DAPI- 2 CMA ⁺⁺ /DAPI-
	UFPI 794	22	1,10 – 1,92	1,30	11 M	32,89	1,49	16,44	20 CMA/DAPI- 2 CMA ⁺⁺ /DAPI-
	UFPI 795	22	1,03 – 1,73	1,36	10 M + 1 SM	29,23	1,33	14,62	20 CMA/DAPI- 2 CMA ⁺⁺ /DAPI-
	UFPI 796	22	0,90 – 1,49	1,29	11 M	26,71	1,21	13,36	22 CMA ⁺⁺ /DAPI-
	UFPI 797	22	1,15 – 2,36	1,44	9 M + 2 SM	38,11	1,73	19,06	22 CMA ⁺⁺ /DAPI-
	UFPI 799	22	1,81 – 3,14	1,31	11 M	52,91	2,41	26,46	20 CMA ⁺ /DAPI- 2 CMA ⁺⁺ /DAPI-
	UFPI 800	22	1,54 – 2,42	1,26	11 M	43,86	1,99	21,93	22 CMA ⁺⁺ /DAPI-
	UFPI 801	22	1,41 – 2,47	1,28	11 M	41,87	1,90	20,93	20 CMA ⁺ /DAPI- 2 CMA ⁺⁺ /DAPI-
<i>Phaseolus lunatus</i> L.	UFPI 803	22	1,69 – 2,74	1,28	11 M	48,57	2,21	24,29	22 CMA ⁺⁺ /DAPI-
	UFPI 804	22	1,51 – 2,79	1,34	10 M + 1 SM	46,48	2,12	23,29	20 CMA ⁺ /DAPI- 2 CMA ⁺⁺ /DAPI-
	UFPI 806	22	1,59 – 2,81	1,43	9 M + 2 SM	48,64	2,21	24,32	22 CMA ⁺⁺ /DAPI-
	UFPI 807	22	1,61 – 2,88	1,26	11 M	49,42	2,25	24,71	-
	UFPI 809	22	0,92 – 1,60	1,36	10 M + 1 SM	27,02	1,23	13,51	22 CMA ⁺⁺ /DAPI-
	UFPI 810	22	1,61 – 2,78	1,29	11 M	48,06	2,18	24,03	22 CMA/DAPI-
	UFPI 814	22	1,31 – 2,12	1,24	11 M	37,73	1,71	18,86	22 CMA ⁺⁺ /DAPI-
	UFPI 815	22	1,34 – 2,42	1,39	8 M + 3 SM	40,97	1,86	20,48	22 CMA ⁺⁺ /DAPI-
	UFPI 816	22	1,43 – 2,69	1,49	6 M + 5 SM	45,66	2,08	22,83	20 CMA/DAPI- 2 CMA ⁺ /DAPI-
	UFPI 817	22	1,65 – 2,97	1,48	7 M + 4 SM	51,27	2,33	25,64	20 CMA/DAPI- 2 CMA ⁺ /DAPI-
	UFPI 852	22	1,11 – 2,15	1,31	10 M + 1 SM	33,32	1,51	16,66	20 CMA ⁺⁺ /DAPI- 2 CMA ⁺ /DAPI-
	UFPI 857	22	1,61 – 2,52	1,35	10 M + 1 SM	44,63	2,03	22,31	22 CMA ⁺⁺ /DAPI-

O intervalo do tamanho cromossômico (ITC) dos acessos variou de 0,85 μm (UFPI 790) a 3,14 μm (UFPI 799), sendo um valor comum observado em *Phaseolus* (MERCADO-RUARO; DELGADO-SALINAS, 2009). O comprimento total cromossômico (CTC) variou de 26,10 μm (UFPI 790) a 52,91 μm (UFPI 799). Os mesmos autores relataram para espécies relacionadas ao feijão-fava valores de 19,81 μm (*P. microcarpus*), 23,32 μm (*P. xanthotrichus*), 26,0 μm (*P. maculatus*), 27,66 μm (*P. dumosus*), 28,64 μm (*P. oligospermus*) e 29,74 μm (*P. coccineus*). Outros estudos foram relatados para quatro espécies cultivadas de *Phaseolus* em que *P. vulgaris* apresentou tamanho de 23,83 μm para a variedade 'Saxa' e 24,64 para a variedade 'Wax', *P. coccineus* apresentou 29,07 μm , *P. acutifolius* variedade latifolius obteve valor de 28,78 μm e *P. lunatus* teve como resultado 27,38 μm de comprimento total cromossômico (MOSCONE et al., 1999).

O pequeno tamanho dos cromossomos de *Phaseolus* foi também, anteriormente, relatado na literatura, em que foram encontrados cromossomos variando de 1,00 μm a 2,40 μm , 0,70 μm a 2,36 μm e 0,70 μm a 1,60 μm (MERCADO-RUARO; DELGADO-SALINAS, 1998, 2009; SARBHOY, 1977), respectivamente. Foi mostrado ainda, para duas variedades da espécie de *P. vulgaris* (*P. vulgaris climbing* e *P. vulgaris dwarf*), tamanho cromossômico de 3,00 μm (SARBHOY, 1977). Um estudo de quatro espécies cultivadas de *Phaseolus* mostrou que os cromossomos mitóticos em metáfase variaram de 1,7 μm a 3,5 μm (MOSCONE et al., 1999), podendo explicar o tamanho médio incomum dos cromossomos do acesso UFPI 799 (3,14 μm) (Tabela 4).

A coloração convencional ainda é comumente utilizada na citogenética porque permite uma fácil manipulação e resultados rápidos, informativos, de boa qualidade e alta reprodutibilidade (PEÑALOZA; VALLS, 2005). É amplamente utilizada em plantas como no caso do tamarindo (*Tamarindus indica*) (Fabaceae) em que foi possível ampliar informações existentes sobre o cariótipo da espécie, como por exemplo, número cromossômico igual à $2n=2x=24$ e cariótipo pequeno, característica que é compartilhada pela maioria das leguminosas (TAPIA-PASTRANA et al., 2012).

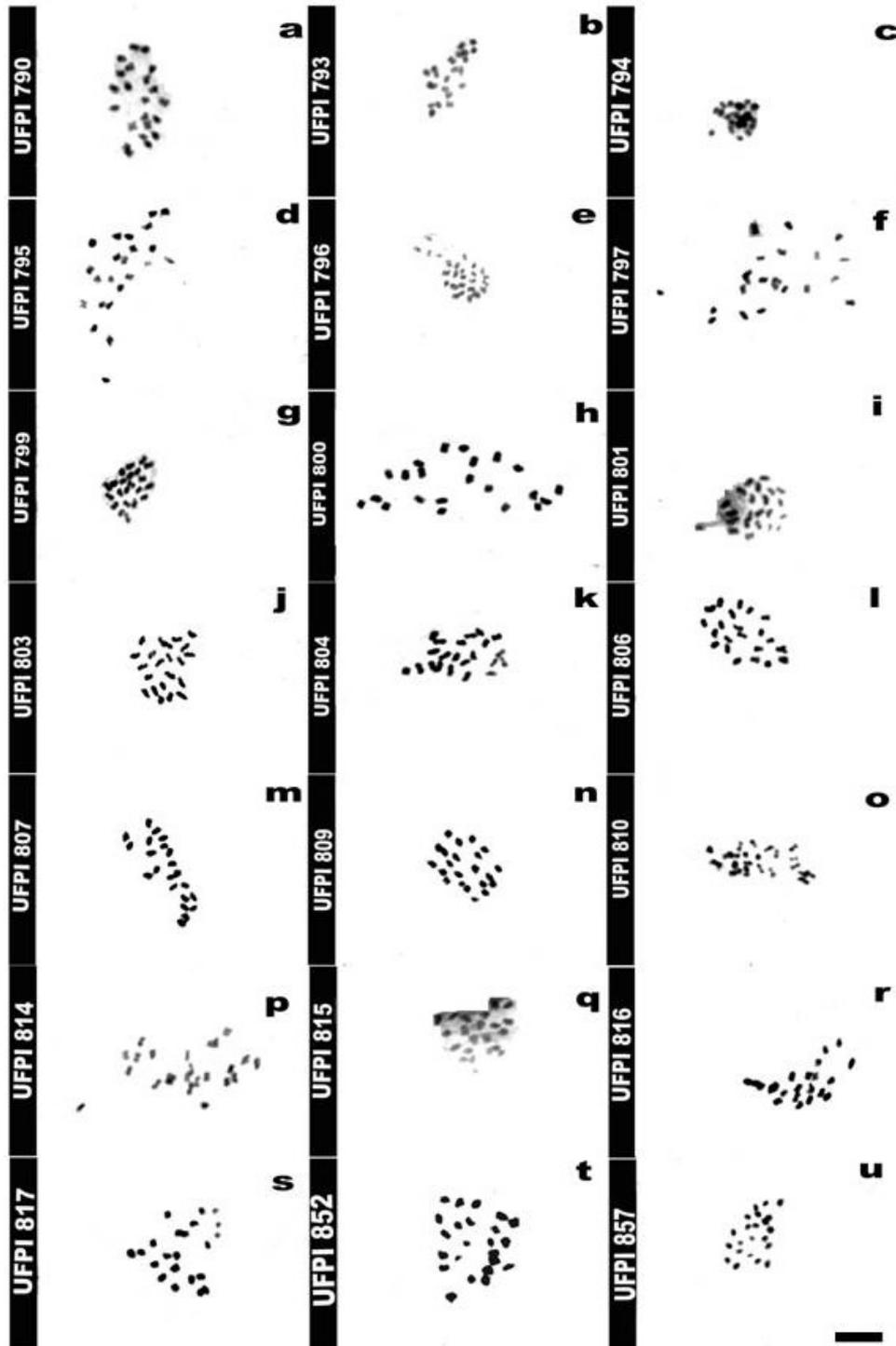


Figura 3 - Análise cariotípica em acessos de feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.) por meio da técnica de coloração convencional com Giemsa. Barra = 10 μ m

4.2 Dupla coloração com fluorocromos CMA e DAPI revela regiões pericentroméricas e terminais ricas em GC nos acessos

Nos 20 acessos de feijão-fava analisados com fluorocromosno presente trabalho, foram observados blocos de heterocromatina pericentromérica, altamente rica em GC, de diferentes tamanhos e intensidades (Tabela 4). Blocos de heterocromatina ricos em AT não foram observados pela técnica. A presença de polimorfismos de bandas gerou categorias citológicas (CMA⁺⁺/DAPI⁻) para regiões altamente ricas em GC e reduzidas em AT, (CMA⁺/DAPI⁻) para regiões moderadamente ricas em GC e reduzidas em AT e (CMA/DAPI⁻) para regiões com pouca quantidade de GC e reduzidas em AT (Tabela 4; Figura 4). Adicionalmente, todos os acessos apresentaram pelo menos um bloco CMA⁺ terminal, correspondendo provavelmente aos locais que flanqueam regiões organizadoras de nucléolo (RONs) onde ficam situados os genes de DNAr 35S repetidos em tandem (VOLKOV et al., 2007). Assim, o padrão de bandas gerou as fórmulas (20 CMA⁺/DAPI⁻/ 2CMA⁺⁺/DAPI⁻) nos acessos UFPI 790, 793, 799, 801 e 804). A fórmula (20 CMA/DAPI⁻/ 2CMA⁺/DAPI⁻) foi observada nos acessos UFPI 816 e 817, e (20 CMA/DAPI⁻/ 2CMA⁺⁺/DAPI⁻) foi vista nos acessos UFPI 794 e 795. Nos acessos UFPI 796, 797, 800, 803, 806, 809, 814, 815, 857 foram observados a fórmula (22CMA⁺⁺/DAPI⁻). O acesso 810 apresentou 22 bandas CMA/DAPI⁻ e o 852 apresentou 22 bandas CMA⁺⁺/DAPI⁻/2CMA⁺/DAPI⁻.

O padrão de distribuição de heterocromatina pericentromérica em feijão-fava e em *Phaseolus* como um todo, além de gêneros próximos como *Vigna*, por exemplo, tem sido extensivamente relatado na literatura (GALASSO et al., 1992;1993; PIGNONE et al., 1995; MOSCONE et al., 1999; PEDROSA-HARAND et al., 2009; BONIFÁCIO et al., 2012, ALMEIDA e PEDROSA-HARAND, 2013).

Além do mais, nove clones de DNA repetitivo de feijão-comum foram hibridizados via BAC-FISH na região pericentromérica de feijão-fava sugerindo que essa fração mais condensada, rica em GC e CMA⁺, compartilhe sequências em comum entre as duas espécies (PEDROSA-HARAND et al., 2013). Semelhantemente, Bonifácio et al., (2012) usaram sete clones de feijão-comum na região pericentromérica de feijão-fava e todos os clones marcaram as regiões pericentroméricas ricas em CMA⁺, confirmando forte semelhança e estabilidade entre essas sequências. Em *P. vulgaris*, a região pericentromérica, que também é heterocromática e CMA positiva, apresenta forte supressão de recombinação e isso

sugere que no feijão-fava, devido às mesmas características citológicas, esta mesma região também seja suprimida de recombinação via processos epigenéticos como hipermetilação e hipoacetilação (FEITOZA; GUERRA,2011; FONSÊCA et al., 2015; PEDROSA-HARAND et al., 2009).

Estudos evolutivos no gênero *Phaseolus* mostraram que *P. vulgaris*, *P. coccineus* e *P. acutifolius* formam um clado (o grupo Vulgaris), enquanto *P. lunatus* e outras espécies foram colocadas em outro grupo, o que justificaria as pequenas variações citológicas nestas espécies observadas por FISH (Fluorescence *in situ* hybridization) (DELGADO-SALINAS et al. 2006).

A variação de marcação com CMA permitiu gerar categorias citológicas, tornando possível caracterizar o grupo de sementes andinas e mesoamericanas, embora alguns padrões de bandas estivessem presentes em um grupo e outro de sementes. De uma maneira geral, as fórmulas $(22\text{CMA}^{++}/\text{DAPI}^{-})$ e $(22\text{CMA}/\text{DAPI}^{-})$, foram predominantes nas sementes “Grande Lima” (UFP 796, 797, 803, 806, 809, 814, e 857) e (UFPI 810), respectivamente, embora tenha sido observada também em cariótipos de duas sementes tipo “Sieva” (UFPI 800 e 815). A fórmula $(20\text{CMA}^{+}/\text{DAPI}^{-}/2\text{CMA}^{++}/\text{DAPI}^{-})$ foi vista em acessos de sementes do grupo Grande Lima (UFPI 790, 801 e 804), Batata (UFPI 799) e Sieva (UFPI 793). A fórmula $(20\text{CMA}/\text{DAPI}^{-}/2\text{CMA}^{+}/\text{DAPI}^{-})$ incluiu os acessos UFPI 816 (Batata) e 817 (Batata), enquanto $(20\text{CMA}/\text{DAPI}^{-}/2\text{CMA}^{++}/\text{DAPI}^{-})$ foi vista nos acessos UFPI 794 (Grande Lima) e 795 (Sieva).

Para uma maior clareza sobre o padrão de distribuição de bandas fluorescentes, bem como tamanho, morfologia e número do conjunto cromossômico, tem-se representado no esquema, em forma de idiogramas, o conjunto haplóide dos cromossomos de feijão-fava (Figura 5).

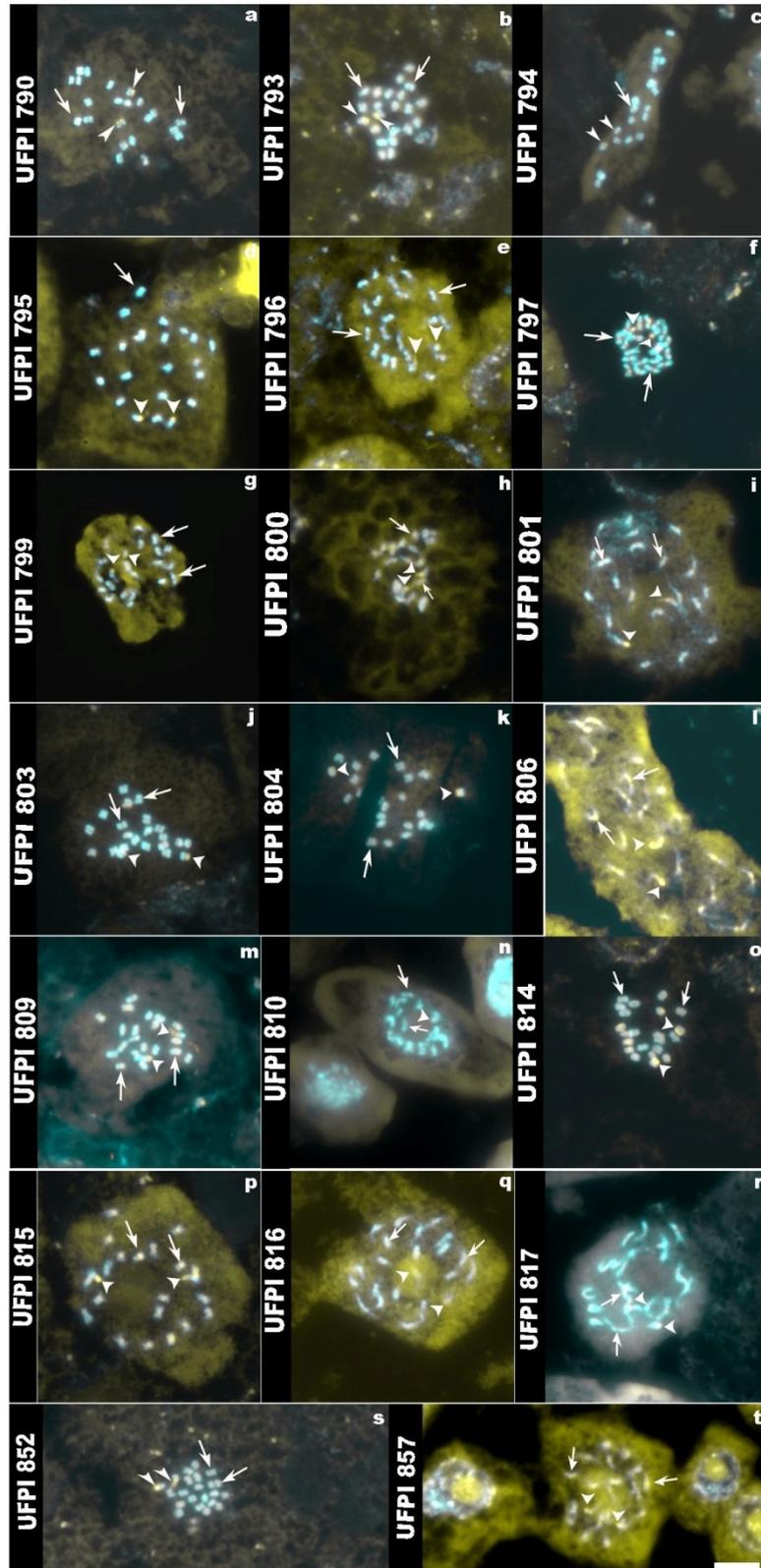


Figura 4 - Dupla coloração CMA/DAPI em acessos de feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.). Setas indicam blocos de CMA marcando a região pericentromérica dos cromossomos. Cabeças de seta indicam pequenos blocos CMA que podem estar associados com regiões organizadoras de nucléolo (RONs). Barra= 10 μ m.

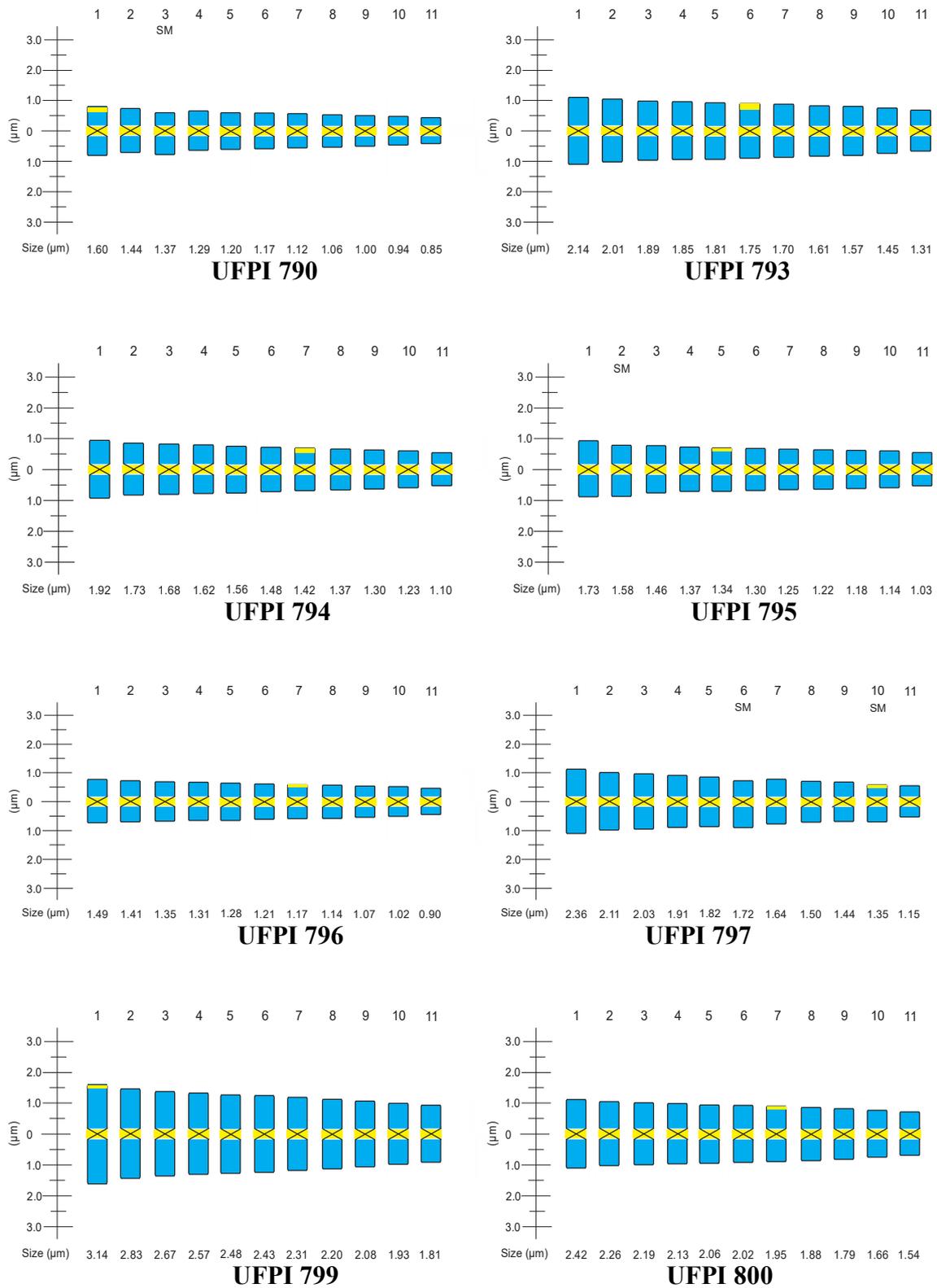


Figura 5 - Idiograma representando o tamanho, morfologia e distribuição de bandas CMA nos cromossomo dos acessos defeijão-fava (*Phaseolus lunatus*) pertencentes ao BAG – UFPI.

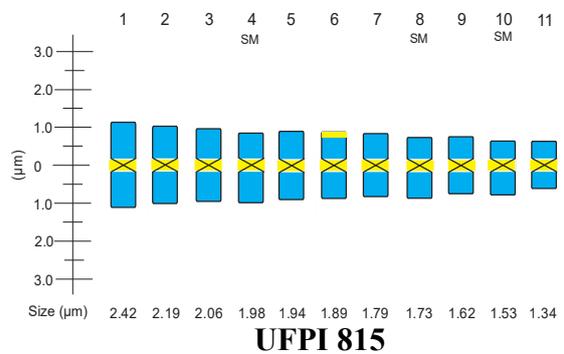
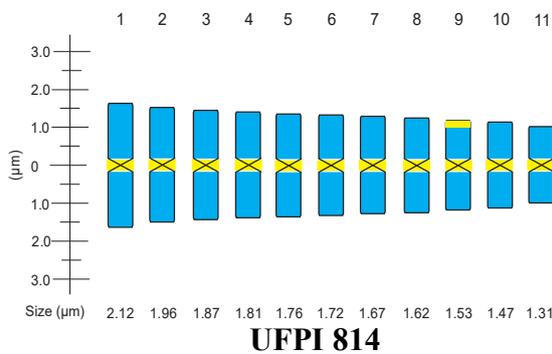
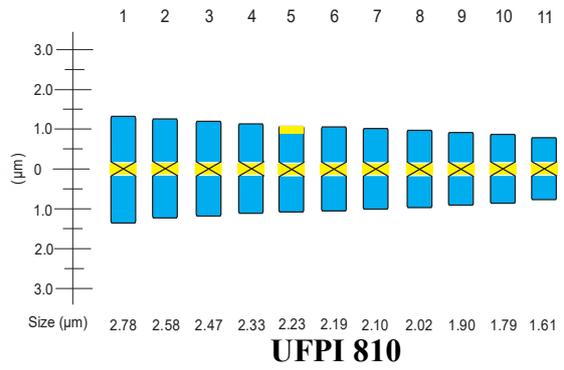
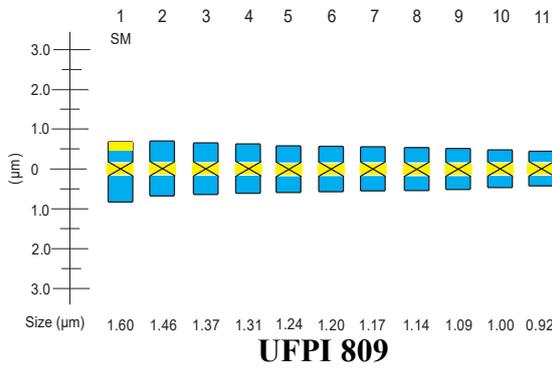
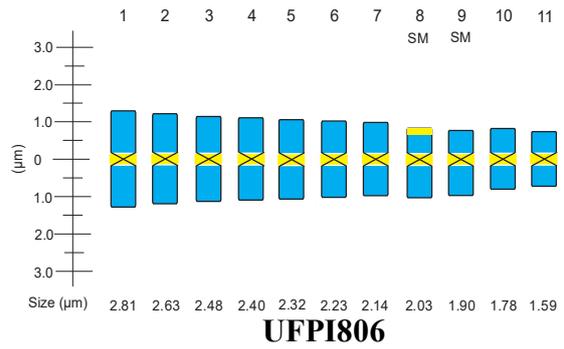
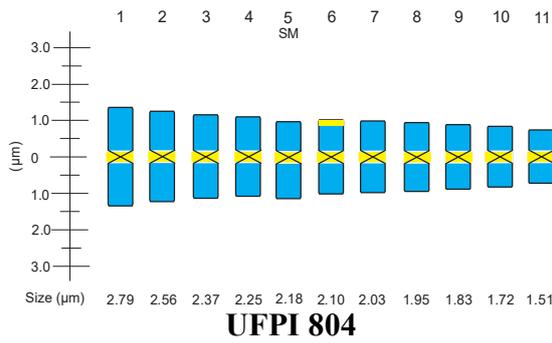
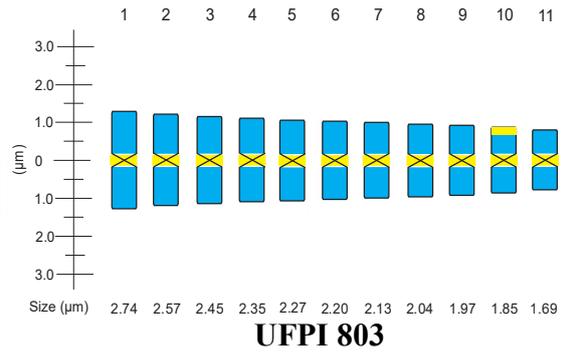
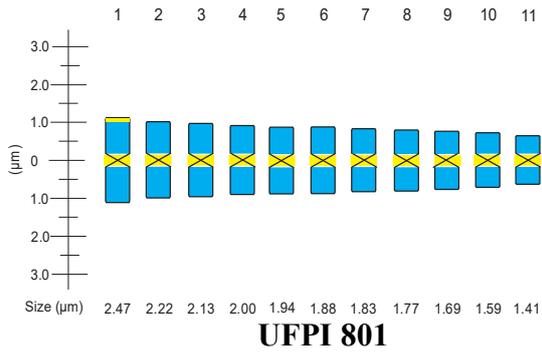


Figura 5...conti -- Idiograma representando o tamanho, morfologia e distribuição de bandas CMA nos cromossomo dos acessos defeijão-fava (*Phaseolus lunatus*) pertencentes ao BAG – UFPI.

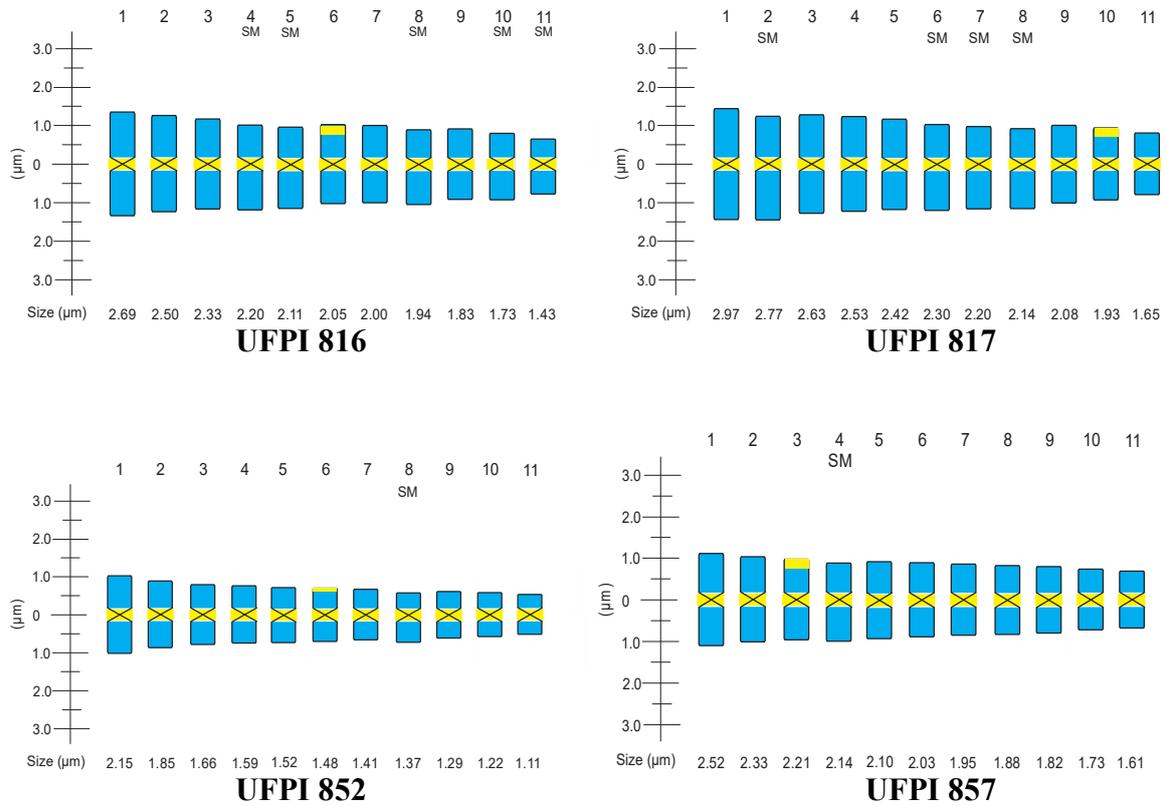


Figura 5...cont- Idiograma representando o tamanho, morfologia e distribuição de bandas CMA nos cromossomo dos acessos de feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.) pertencentes ao BAG – UFPI.

4.3 Diversidade genética por meio de características morfológicas das sementes

Em adição à caracterização citogenética, também foi traçado um perfil morfológico das mesmas sementes pertencentes aos acessos avaliados anteriormente.

Para as diferentes variedades estudadas, pôde-se observar uma variação em função do comprimento, largura e espessura das sementes. Considerando o comprimento médio das sementes, a variedade fava branca (UFPI 852) diferiu estatisticamente da variedade branquinha (UFPI 790) e ambas apresentaram sementes mais longas, com valores de 21,82 mm e 19,58 mm, respectivamente. Os acessos com menores comprimentos foram UFPI 817 e UFPI 816, com 11,97 e 11,03, respectivamente, não diferindo estatisticamente entre si (Tabela 5). Para a largura das sementes, cuja média geral foi 11,08, as sementes mais largas foram observadas nos acessos UFPI 852 (14,06 mm) e UFPI 790 (12,77 mm), enquanto que os acessos UFPI 817 (9,02 mm) e UFPI 816 (8,20 mm) apresentaram sementes mais estreitas (Tabela 5). Ambas as variedades apresentaram diferenças estatísticas entre si.

Santos et al., (2002) ao realizar um estudo sobre produtividade e morfologia de vagens e sementes em feijão-fava encontraram que o comprimento das sementes variou de 7,8 mm a 17,5 mm, sendo as variedades Orelha-de-vó e Raio-de-Sol que apresentaram maiores valores, 17,5 mm e 17,1 mm, respectivamente. Nobre et al., (2012) ao caracterizar a morfologia externa de sementes de feijão-fava encontraram para as variedades estudadas valores para comprimento, largura e espessura variando de 9,04 a 18,88 mm, 7,72 a 12,49 mm e de 5,37 a 6,52 mm, respectivamente.

Os resultados obtidos no presente estudo, que mostraram a variedade Orelha-de-vó (UFPI 814) obteve valores de comprimento e largura iguais a 17,17 mm e 12,27 mm, respectivamente. Concordando com Advíncula et al., (2015) que encontraram no estudo sobre a qualidade física e fisiológica de sementes de feijão-fava que a variedade Orelha-de-vó teve maior comprimento e largura, 17,45 mm e 11,45 mm, respectivamente.

Segundo Silva et al., (2017) o trabalho com feijão-fava mostraram uma ampla diversidade quanto ao comprimento e a largura da semente, sendo as características que mais contribuíram para a variabilidade genética. Este estudo mostrou ampla

variação morfológica, com valores de 8,28 a 22,53 mm e de 6,54 a 14,17 mm para comprimento e largura de sementes, respectivamente.

Os resultados encontrados para morfologia das sementes de feijão-fava (Tabela 5) indicam que há heterogeneidade entre os acessos de feijão-fava pertencentes ao BAG-UFPI, podendo-se inferir que há variabilidade entre as sementes quanto aos parâmetros analisados.

Tabela 5 - Medição das sementes quanto ao comprimento, largura e espessura de 21 acessos de feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.) pertencentes ao Banco de Germoplasma de feijão-fava da Universidade Federal do Piauí (BAG – UFPI).

Nome Científico	Acesso	Comprimento Médio (mm)	Largura Média (mm)	Espessura Média (mm)
<i>Phaseolus lunatus</i> L.	UFPI 790	19,58 b	12,77 b	5,68 b
	UFPI 793	14,16 e	10,03 d	6,72 a
	UFPI 794	17,29 d	10,82 c	6,04 a
	UFPI 795	15,28 e	11,35 c	6,22 a
	UFPI 796	15,65 e	10,44 d	6,01 a
	UFPI 797	17,32 d	11,88 c	5,77 b
	UFPI 799	12,04 f	9,30 e	5,97 a
	UFPI 800	14,75 e	11,15 c	6,45 a
	UFPI 801	17,18 d	11,28 c	6,03 a
	UFPI 803	17,07 d	11,56 c	5,56 b
	UFPI 804	18,38 c	11,39 c	6,31 a
	UFPI 806	18,46 c	11,54 c	6,36 a
	UFPI 807	16,89 d	10,78 c	6,13 a
	UFPI 809	17,45 d	11,72 c	6,35 a
	UFPI 810	15,95 e	11,31 c	6,09 a
	UFPI 814	17,17 d	12,27 c	6,01 a
	UFPI 815	15,64 e	10,51 d	5,73 b
	UFPI 816	11,03 f	8,20 f	5,37 b
	UFPI 817	11,97 f	9,02 e	6,06 a
	UFPI 852	21, 82 a	14,46 a	5,78 a
	UFPI 857	15,29 e	11,48 c	6,26 a
Média Geral		15,29	11,08	6,03

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

As sementes foram classificadas a partir das medições em que foram estabelecidos os coeficientes J (Comprimento/Largura) e H (Espessura/Largura) (Tabela 6).

Quanto ao coeficiente J, os acessos que apresentaram maiores valores foram UFPI 804 e UFPI 806 e os menores valores foram apresentados pelos acessos UFPI

803 e UFPI 799. Para o coeficiente H obteve-se os maiores valores para os acessos UFPI 793, UFPI 816 e UFPI 817 e os menores valores foram atribuídos aos acessos UFPI 852 e UFPI 790 (Tabela 6).

Os resultados obtidos para o coeficiente J resultaram em sementes predominantemente de formato Esférico (UFPI 793, 795, 797, 799, 800, 803, 810, 814, 816, 817, 852 e 857) e formato Elíptico (UFPI 790, 794, 796, 801, 804, 806, 807, 809 e 815) e perfil achatado (todos os acessos) (Tabela 6).

Tabela 6 - Classificação das sementes quanto à forma e perfil de 21 acessos de feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.) pertencentes ao Banco de Germoplasma de feijão-fava da Universidade Federal do Piauí (BAG – UFPI).

Nome Científico	Acesso	Comprimento/ Largura (J)	Espessura/ Largura (H)	Forma	Perfil
<i>Phaseolus lunatus</i> L.	UFPI 790	1,53	0,44	Elíptica	Achatada
	UFPI 793	1,40	0,66	Esférica	Achatada
	UFPI 794	1,59	0,55	Elíptica	Achatada
	UFPI 795	1,34	0,54	Esférica	Achatada
	UFPI 796	1,46	0,57	Elíptica	Achatada
	UFPI 797	1,42	0,48	Esférica	Achatada
	UFPI 799	1,29	0,64	Esférica	Achatada
	UFPI 800	1,31	0,57	Esférica	Achatada
	UFPI 801	1,52	0,51	Elíptica	Achatada
	UFPI 803	1,17	0,47	Esférica	Achatada
	UFPI 804	1,61	0,55	Elíptica	Achatada
	UFPI 806	1,60	0,55	Elíptica	Achatada
	UFPI 807	1,57	0,56	Elíptica	Achatada
	UFPI 809	1,48	0,53	Elíptica	Achatada
	UFPI 810	1,41	0,53	Esférica	Achatada
	UFPI 814	1,39	0,48	Esférica	Achatada
	UFPI 815	1,47	0,53	Elíptica	Achatada
	UFPI 816	1,33	0,65	Esférica	Achatada
	UFPI 817	1,32	0,65	Esférica	Achatada
	UFPI 852	1,51	0,39	Esférica	Achatada
	UFPI 857	1,33	0,54	Esférica	Achatada

Neste trabalho a variedade branquinha (UFPI 790) e boca-de-moça (UFPI 794, 804, 806 e 807) apresentaram formato elíptico, já o acesso orelha-de-vó (UFPI 814) apresentou formato esférico. O resultados relatados no presente estudo diferem dos encontrados por Santos et al., (2002) em que obtiveram sementes de formato esférico para as variedades amarela-cearense, branquinha e olho-de-peixe, oblongo para boca-de-moça e elíptico para mororó, olho-de-ovelha, orelha-de-vó e raio-de-sol. Quanto ao perfil das sementes os autores encontraram sementes achatadas (Amarela-cearense, Mororó, Olho-de-ovelha, Orelha-de-vó e Raio-de-sol), semi-

cheia ou semi-achatada (Boca-de-moça) e cheia (Branquinha e Olho-de-peixe), diferindo novamente dos resultados encontrado neste trabalho, em que foi observados sementes predominantemente de perfil achado.

Quanto ao peso, as sementes podem ser enquadradas em três grupos: Batata (sementes pequenas, pesando de 35 a 50 g para um total de 100 sementes), Sieva (sementes médias, com peso variando de 50 a 70 g para um total de 100 sementes) e por fim Grande Lima (sementes grandes podendo pesar de 70 a 110 g para um total de 100 sementes) de acordo com os estudos de Baudet (1977) e Castineiras (1991).

Neste trabalho, o acesso UFPI 816 foi o de menor valor (36,10 g) e o acesso UFPI 806 (91,45 g) foi o de maior valor quanto ao peso de 100 sementes (Tabela 7).

Tabela 7 - Classificação das sementes quanto ao peso de 100 sementes de 21 acessos de feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.) pertencentes ao Banco de Germoplasma de feijão-fava da Universidade Federal do Piauí (BAG – UFPI).

Nome Científico	Acesso	Peso (g)	Grupo
<i>Phaseolus lunatus</i> L.	UFPI 790	90,91	Grande Lima
	UFPI 793	63,36	Sieva
	UFPI 794	71,76	Grande Lima
	UFPI 795	65,62	Sieva
	UFPI 796	70,15	Grande Lima
	UFPI 797	85,08	Grande Lima
	UFPI 799	41,01	Batata
	UFPI 800	60,21	Sieva
	UFPI 801	79,58	Grande Lima
	UFPI 803	70,59	Grande Lima
	UFPI 804	81,30	Grande Lima
	UFPI 806	91,45	Grande Lima
	UFPI 807	71,97	Grande Lima
	UFPI 809	84,50	Grande Lima
	UFPI 810	75,90	Grande Lima
	UFPI 814	78,30	Grande Lima
	UFPI 815	66,73	Sieva
	UFPI 816	36,10	Batata
	UFPI 817	40,47	Batata
	UFPI 852	87,03	Grande Lima
	UFPI 857	72,10	Grande Lima

Acessos classificados de acordo com o informado por Baudet, (1977) e Castineiras, (1991), quanto ao tamanho das sementes.

Com base nos padrões avaliados (forma, perfil e peso das sementes), percebeu-se a predominância de sementes pertencentes ao grupo “Grande Lima” (UFPI 790, 794, 796, 797, 801, 804, 806, 807, 809, 810, 814, 852 e 857), tratando-se

especificamente de sementes achatadas e elípticas. O acesso UFPI 803 também pertence ao grupo Grande Lima e possui perfil achatado, entretanto, apresentou forma esférica. As demais pertenceram aos grupos “Sieva” (UFPI 793, 795, 800 e 815) e “Batata” (UFPI 799, 816 e 817) (Tabela 7). O grupo “Grande Lima” representa o conjunto gênico Andino, enquanto que os grupos “Sieva” e “Batata” representam o conjunto gênico Mesoamericano (MARTINEZ-CASTILHO et al., 2008; 2014).

Trabalhos anteriores utilizando 24 acessos pertencentes ao BAG-UFPI encontraram os maiores valores para o peso médio de 100 sementes iguais à 103,00 g (UFPI-666) e 101,53 g (UFPI-622). Em contrapartida, o acesso com menor média para este mesmo caráter refere-se ao acesso UFPI-777, apresentando valor igual a 21,1 g (SOUSA et al., 2015), confirmando considerável polimorfismo quanto a morfologia das sementes do BAG-UFPI. No estudo realizado por Santos et al., (2002) o peso médio de 100 sementes variou de 32,6 g (Branquinha e Olho-de-peixe) a 79,5 g (Orelha-de-vó). Nobre et al., (2012) encontrou um valor médio para o peso de mil sementes de 573,70 gramas, que corresponde a 57,37 g para cada 100 sementes.

Silva et al., (2017) observaram a formação de três grupos de indivíduos, em que o grupo I (74 acessos), apresentou sementes pequenas, semi-achatadas e esféricas, com menores valores médios de comprimento e largura, que são características semelhantes a acessos encontrados no pool gênico mesoamericano. O grupo II 90% dos acessos apresentou características de sementes de ambos os pools de genes, andino e mesoamericano. E o grupo III foi constituído por acessos com maiores valores médios para comprimento e largura de sementes, sendo predominantemente grandes, características marcantes do pool gênico andino. Dessa forma, os autores concluíram que os acessos representam ambos pools gênicos: andino e mesoamericano.

As características de sementes grandes e achatadas avaliadas no presente trabalho sugerem que essas subamostras pertencem também ao conjunto gênico Andino. Sabe-se que acessos pertencentes ao conjunto gênico Andino são restritos, geograficamente, ao Equador e norte do Peru e se adaptam melhor a regiões secas (BAUDOIN et al., 2004). Entretanto, resultados sugeriram que no Brasil há uma predominância do conjunto gênico Mesoamericano (SILVA et al., 2017). Além disso, há estudos que reforçam a tese de que o grupo Mesoamericano parece apresentar distribuição mais ampla que o grupo Andino (ANDUEZA-NOH et al., 2013).

Embora os padrões de HC pericentromérica ($22\text{CMA}^{++}/\text{DAPI}^-$) e ($22\text{CMA}/\text{DAPI}^-$), tenha sido predominante nas sementes pertencentes ao grupo “Grande Lima” e o padrão de HC ($20\text{CMA}/\text{DAPI}^-/2\text{CMA}^+/\text{DAPI}^-$) predominasse nos grupos Sieva e Batata, fórmulas citológicas como ($20\text{CMA}^+/\text{DAPI}^-/2\text{CMA}^{++}/\text{DAPI}^-$) e ($20\text{CMA}/\text{DAPI}^-/2\text{CMA}^{++}/\text{DAPI}^-$), foram encontrados nos grupos “Grande Lima”, “Batata” e “Sieva”, corroborando a idéia anterior de que o Gene pool Andino possa ser considerado ancestral ao grupo mesoamericano. Andueza-Noh et al., (2013) e Martínez-Castillo et al. (2014), por meio de marcadores moleculares observaram que algumas características citológicas são compartilhadas por acessos pertencentes aos dois pool gênicos.

5. CONCLUSÕES

- ✓ A coloração com Giemsa confirmou o tamanho cromossômico reduzido e um conjunto diplóide de $2x = 2n = 22$ cromossomos simétricos, confirmando a estabilidade cariotípica sugerida previamente para o feijão-fava.
- ✓ A técnica de bandeamento cromossômico com fluorocromos CMA e DAPI permitiu a identificação do padrão de bandas (pericentroméricas e terminais) e mostrou que existem pequenas variações nas fórmulas cariotípicas dos acessos do BAG-UFPI.
- ✓ A heterocromatina pericentromérica CMA⁺ no feijão-fava apresenta características citológicas semelhantes ao observado em espécies próximas, como a do feijão-comum.
- ✓ Existe variabilidade quanto ao comprimento, largura e espessura da semente entre os acessos estudados pertencentes ao BAG - UFPI, sendo possível a utilização desta informação para subsidiar programas de melhoramento vegetal da espécie.
- ✓ A morfologia das sementes, avaliadas na pesquisa, sugere que existem amostras representativas dos três grupos descritos por Mackie (Batata, Sieva e Grande Lima).
- ✓ Embora as sementes pertencentes ao grupo “Grande Lima” tenham apresentando uma maior diferenciação cariotípica, características citológicas em comum foram compartilhadas por acessos pertencentes aos três grupos (Batata, Sieva e Grande Lima), reforçando os dados moleculares prévios de que existe uma relação de ancestralidade na evolução desses grupos.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADVÍNCULA, T. L.; DE NADAI, F. B.; NOBRE, D. A. C.; FERREIRA, B.; MOLLER, É. N.; BRANDÃO JÚNIOR, D. D. S.; DA COSTA, C. A. Qualidade física e fisiológica de sementes de *Phaseolus lunatus* L. **Brazilian Journal of Agricultural Sciences/Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 10, n. 3, p. 341-346, 2015.

ALMEIDA, C. C. D. S. **Mapeamento físico e análise evolutiva em *Phaseolus vulgaris* L. e *P. lunatus* L., utilizando hibridação *in situ* fluorescente (FISH)**. 2006. 105f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2006.

ALMEIDA, C.; PEDROSA-HARAND, A. Contrasting DNA evolution in lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) and common bean (*Phaseolus vulgaris* L., Fabaceae). **Cytogenetic and genome research**, v. 132, n. 3, p. 212-217, 2010.

ALMEIDA, C.; PEDROSA-HARAND, A. High macro-collinearity between lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) and the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) as revealed by comparative cytogenetic mapping. **Theoretical and applied genetics**, v. 126, n. 7, p. 1909-1916, 2013.

ANDUEZA-NOH, R. H.; SERRANO-SERRANO, M. L.; SÁNCHEZ, M. C.; DEL PINO, I. S.; CAMACHO-PÉREZ, L.; COELLO-COELLO, J. Multiple domestications of the Mesoamerican gene pool of lima bean (*Phaseolus lunatus* L.): evidence from chloroplast DNA sequences. **Genetic resources and crop evolution**, v. 60, n. 3, p. 1069-1086, 2013.

ARTILES, G. R.; MATOS, A. B. Revisión taxonómica de los generos *Phaseolus* y *Vigna* (Leguminosae-Papilionoideae) en Cuba. In: **Anales Del Jardín Botánico de Madrid**. Real Jardín Botánico, p. 135-154, 2004.

BASURTO, A.; CAMARENA, F.; GROBMAN, A.; ROCA, W.; SALAS, A.; SEVILLA, R. **Magnitud e impacto potencial de la liberación de organismos modificados y sus productos comerciales: casos: algodón, leguminosas de grano, maíz, y papa**. Consejo Nacional del Ambiente, Lima (Peru). p.13, 2005.

BAUDET, J. C. The taxonomic status of the cultivated types of lima bean (*Phaseolus lunatus* L.). **Trop. Grain Bull**, n. 7, p. 29-30, 1977.

BAUDOIN, J. P. Genetic resources, domestication and evolution of lima bean, *Phaseolus lunatus*. In: **Genetic resources of Phaseolus beans**. Springer Netherlands, p. 393-407, 1988.

BAUDOIN, J. P..Contribution des ressources phylogénétiques à La sélection variétale de légumineuses alimentaires tropicales. **Biotechnologie, agronomie, société et environnement**, v. 5, n. 4, p. 221-230, 2001.

BAUDOIN, J. P.; ROCHA, O.; DEGREEF, J.; MAQUET, A.; GUARINO, L. **Ecogeography, demography, diversity and conservation of Phaseolus lunatus L. in the central valley of Costa Rica**. Bioersivity International, 2004.

BELLUCI, E.; NANNI, L.; BIAGETTI, E.; BITOCCHI, E.; GIARDINI, A.; RAU, D.; RODRIGUEZ, M.; ATTENE, G.; PAPA, P.Common bean origin, evolution and spread from America. **Legume Perspectives**, v. 2, p. 12-16, 2014.

BONIFÁCIO, E. M.; FONSÊCA, A.; ALMEIDA, C.; DOS SANTOS, K. G.; PEDROSA-HARAND, A. Comparative cytogenetic mapping between the lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) and the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Theoretical and Applied Genetics**, v. 124, n. 8, p. 1513-1520, 2012.

BORGES, L. A.; SOUZA, L. G. R.; GUERRA, M.; MACHADO, I. C.; LEWIS, G. P.; LOPES, A. V. Reproductive isolation between diploid and tetraploidcytotypes of *Libidibiaferrea* (*Caesalpinia ferrea*)(Leguminosae): ecological and taxonomic implications. **Plant Systematics and Evolution**, v. 298, n. 7, p. 1371-1381, 2012.

BRAGANTINI, C. Produção de sementes. . In: ARAÚJO, R.S.; RAVA, C. A.; STONE, L. F.; ZIMMERMANN, M. J. O. **Cultura do feijoeiro comum no Brasil**. Piracicaba: Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fosfato (POTAFOS), p.786, 1996.

BURLE, M. L.; OLIVEIRA, M. S. P. Manual de Curadores de Germoplasma-Vegetal: Caracterização Morfológica. **Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia**, 2010.

CAICEDO, A. L.; DUQUE, M. C.; CHICA, O. T.; DEBOUCK, D. G.; TOHME, J. AFLP Fingerprinting of L. and Related Wild Speciesfrom South America. **American Society of Agronomy**, 1999.

CANGUSSÚ, L. V. D. S.; DAVID, A. M. S. D. S.; AMARO, H. T. R.; ASSIS, M. D. O. Efeito do tamanho de sementes no desempenho fisiológico de feijoeiro. **Pesquisa Agropecuária Gaúcha**, v. 19, ns.1/2, p. 71-79, 2013.

CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. Germinação de sementes. **Sementes: Ciência, tecnologia e produção**, v. 4, 2000.

CASTIÑEIRAS, L.; ESQUIVEL, M. A.; RIVERO, N.; MARIÑO, A. Variabilidad de La semilla de *Phaseolus lunatus* L. en Cuba. **Revista Del Jardín Botánico Nacional**, p. 109-114, 1991.

COELHO, C. M. M.; ZILIO, M.; SOUZA, C. A.; GUIDOLIN, A. F.; MIQUELLUTI, D. J. Características morfo-agronômicas de cultivares crioulas de feijão-comum em dois anos de cultivo. **Semina: Ciências Agrárias, Londrina**, v. 31, n. suplemento 1, p. 1177-1186, 2010.

DA SILVA, H. T.; COSTA, A. O. **Caracterização botânica de espécies silvestres do gênero *Phaseolus* L. (Leguminosae)**. Embrapa Arroz e Feijão-fava, 2003.

DA SILVA, J. M.; CHAVES FILHO, J. T.; DE MELO FERREIRA, A. Concentração de Carboidratos Solúveis em Folhas de *Phaseolus lunatus* L. em Relação ao Sombreamento. **Estudos**, v. 37, n. 2, 2010.

DA SILVA, V. B. **Caracterização morfoagronômica e citogenética de raças locais de feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.)**. 2011, 76f. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento) Universidade Federal do Piauí, Teresina, 2011.

DE AZEVEDO, J. N. **Composição química de sete variedades de feijão-fava**. Embrapa Meio-Norte, 2003.

DE OLIVEIRA, F. N.; TORRES, S. B.; BENEDITO, C. P. CARACTERIZAÇÃO BOTÂNICA E AGRONÔMICA DE ACESSOS DE FEIJÃO-FAVA, EM MOSSORÓ, RN. **Revista Caatinga**, v. 24, n. 1, p. 143-148, 2010.

DELGADO-SALINAS, A. Biodiversity and systematics of *Phaseolus* L. (Leguminosae). **Legume Perspectives**, v. 2, p. 5-7, 2014.

DELGADO-SALINAS, A.; BIBLER, R.; LAVIN, M. Phylogeny of the genus *Phaseolus* (Leguminosae): a recent diversification in an ancient landscape. **Systematic Botany**, v. 31, n. 4, p. 779-791, 2006.

ESQUIVEL, M.; CASTIÑEIRAS, L.; HAMMER, K. Origin, classification, variation and distribution of lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) in the light of Cuban material. **Euphytica**, v. 49, n. 2, p. 89-97, 1990.

EVANS, A. M. et al. Structure, variation, evolution, and classification in *Phaseolus*. **Structure, variation, evolution, and classification in *Phaseolus***, p. 337-347, 1980.

FEITOZA, L. L.; MARTINS, M. I. G.; CASTRO, A. A. J. F.; FÉLIX, L. P.; CARVALHO, R. Cytogenetics of Alismataceae and Limnocharitaceae: CMA/DAPI banding and 45S DNA sites. **Plant systematics and evolution**, v. 286, n. 3-4, p. 199-208, 2010.

FEITOZA, L.L; GUERRA, M. Different types of plant chromatin associated with modified histones H3 and H4 and methylated DNA. **Genetica**, v. 139, n. 3, p. 305-314, 2011.

FONSÊCA, A.; Ferreira, J.; DOS SANTOS, T. R. B.; MOSIOLEK, M.; BELLUCCI, E.; KAMI, J. GEPTS, P.; GEFFROY, V.; SCHWEIZER, D.; DOS SANTOS, K. G. B.; PEDROSA-HARAND, A. Cytogenetic map of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Chromosome Research**, v. 18, n. 4, p. 487-502, 2010.

FONSÊCA, A.; FERRAZ, M. E.; PEDROSA-HARAND, A. Speeding up chromosome evolution in *Phaseolus*. **Chromosoma**, v. 125, n. 3, p. 413-421, 2015.

FONSECA, J. R.; CASTRO, T. **Coleta de germoplasma de feijão-fava (*Phaseolus vulgaris* L.), feijão-fava de fava (*Phaseolus lunatus*) e caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) no Estado de Goiás, e algumas considerações sobre os seus cultivos**. Documentos/ EMBRAPA-CNPAP, 1983.

FREIRE FILHO, F. R.; LIMA, J. A D. A.; RIBEIRO, V. Q. **Feijão-fava-caupi: avanços tecnológicos**. Teresina, PI: Embrapa Informação Tecnológica, 2005.

FREYTAG, G. F.; DEBOUCK, D. G. **Taxonomy, distribution, and ecology of the genus *Phaseolus* (Leguminosae-Papilionoideae) in North America, Mexico and central America**. Botanical Research Institute of Texas (BRIT), 2002.

GALASSO, I.; PIGNONE, D.; PERRINO, P. Cytotaxonomic studies in *Vigna*. I. General technique and *Vigna unguiculata* C-banding. **Caryologia**, v. 45, n. 2, p. 155-161, 1992.

GALASSO, I.; PIGNONE, D.; PERRINO, P. Cytotaxonomic studies in *Vigna*. II. Heterochromatin characterization in *Vigna unguiculata* and three related wild species. **Caryologia**, v. 46, n. 4, p. 275-282, 1993.

GEPTS, P. Domestications of Phaseolus beans and their importance for conservation and genetic improvement. **Legume Perspectives**, v. 2, p. 8-11, 2014.

GUERRA FILHO, M. dos S. Uso de Giemsa na citogenética vegetal--comparação entre a coloração simples e o bandeamento. **Ciencia e cultura-Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciencia**, 1983.

GUERRA, M. dos S. **Introdução à citogenética geral**. Guanabara Koogan, 1988.

GUERRA, M. **FISH: conceitos e aplicações na citogenética**. Sociedade Brasileira de Genética, 2004.

GUERRA, M.; SOUZA, M. J. D. Como observar cromossomos: um guia de técnicas em citogenética vegetal, animal e humana. **Ribeirão Preto: FUNPEC**, p. 201, 2002.

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

GUSMÃO, A. R. L.; FARIA, J. M.; BORBA, T. C. D. O.; FONSECA, J. M. Atividades do banco ativo de germoplasma de feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L) da embrapa. **Documentos**, IAC, Campinas, 85, 2008.

IBGE. Pesquisa de Produção Agrícola Municipal, 2015. IBGE, 2015. Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br/Tabela/99>

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

IWATA, A.; GREENLAND, C. M.; JACKSON, S. A. Cytogenetics of legumes in the phaseoloid clade. **The plant genome**, v. 6, n. 3, 2013.

JACOBS, M. D.; GARDNER, R. C.; MURRAY, B. G. Cytological characterization of heterochromatin and DNAr in *Pinus radiata* and *P. taeda*. **Plant Systematics and Evolution**, v. 223, n. 1, p. 71-79, 2000.

JUDD, W.; CAMPBELL, C. S.; KELLOGG, E. A.; STEVENS, P. F.; DONOGHUE, M. J. **Sistemática Vegetal: Um Enfoque Filogenético**. Artmed Editora, 2009.

KNUDSEN, H. **Directorio de colecciones de germoplasma en América Latina y el Caribe**. Bioersivity International, 2000.

LIQI, L.; GALASSO, I. Oligonucleotide DNA fingerprinting revealing polymorphism in *Phaseolus lunatus* L. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 49, n. 1, p. 53-58, 2002.

LIU, Z. L.; ZHANG, D.; HONG, D. Y.; WANG, X. R. Chromosomal localization of 5S and 18S-5.8 S-25S ribosomal DNA sites in five Asian pines using fluorescence in situ hybridization. **TAG Theoretical and Applied Genetics**, v. 106, n. 2, p. 198-204, 2003.

LOPES, Â. C. de A.; GOMES, R. L. F.; COSTA, E. M. R.; SOUSA, Í. F. de S.; SANTOS, J. O. dos; SOUSA, T. H. P.; SILVA, K. J. D. E. Diversidade Genética. In: ARAÚJO, A. S. F. de; LOPES, A. C. de A.; GOMES, R. L. F. (Org.). **A cultura do feijão-fava na Região Meio-Norte do Brasil**. Teresina: EDUFPI, v. 1, p. 45-72, 2010.

LYMAN, J. M. Adaptation studies on lima bean accessions in Colombia. **Journal of the American Society for Horticultural Science, Alexandria**, v. 108, n. 3, p. 369-373, 1983.

MACKIE, W. Origin, dispersal, and variability of the lima bean, *Phaseolus lunatus*. **California Agriculture**, v. 15, n. 1, p. 1-29, 1943.

MAQUET, A.; ZOROBI, I.; DELVAUX, M.; WATHELET, B.; BAUDOIN, J. P. Genetic structure of a Lima bean base collection using allozyme markers. **TAG Theoretical and Applied Genetics**, v. 95, n. 5, p. 980-991, 1999.

MARCON, A. B.; BARROS, I. C. L.; GUERRA, M. A karyotype comparison between two closely related species of *Acrostichum*. **American Fern Journal**, v. 93, n. 3, p. 116-125, 2003.

MARCON, A. B.; BARROS, I. C. L.; GUERRA, M. Variation in chromosome numbers, CMA bands and 45S rDNA sites in species of Selaginella (Pteridophyta). **Annals of Botany**, v. 95, n. 2, p. 271-276, 2005.

MARTÍNEZ-CASTILLO, J.; CAMACHO-PÉREZ, L.; VILLANUEVA-VIRAMONTES, S.; ANDUEZA-NOH, R. H.; CHACÓN-SÁNCHEZ, M. I. Genetic structure within the Mesoamerican gene pool of wild *Phaseolus lunatus* (Fabaceae) from Mexico as revealed by microsatellite markers: Implications for conservation and the domestication of the species. **American journal of botany**, v. 101, 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, n. 7, p. 1065-1077, 2008.

MARTINS NETTO, D. A. **Coleção de base e coleção ativa: o banco de germoplasma de sorgo**. Documentos/Embrapa Milho e Sorgo, 1.ed. p. 27. 2010.

MERCADO-RUARO, P.; DELGADO-SALINAS, A. Cytogenetic studies in *Phaseolus* L.(Fabaceae). **Genetics and Molecular Biology**, v. 23, n. 4, p. 985-987, 2000.

MERCADO-RUARO, P.; DELGADO-SALINAS, A. Karyotypic analysis in six species of *Phaseolus* L. (Fabaceae). **Caryologia**, v. 62, n. 3, p. 167-170, 2009.

MERCADO-RUARO, P.; DELGADO-SALINAS, A. Karyotypic studies on species of *Phaseolus* (Fabaceae: Phaseolinae). **American Journal of Botany**, v. 85, n. 1, p. 1-1, 1998.

MOK, D. W. S.; MOK, M. C. A modified Giemsa technique for identifying bean chromosomes. **Journal of Heredity**, v. 67, n. 3, p. 187-188, 1976.

MOSCONE, E. A.; LAMBROU, M.; EHRENDORFER, F. Fluorescent chromosome banding in the cultivated species of Capsicum (Solanaceae). **Plant Systematics and Evolution**, v. 202, n. 1, p. 37-63, 1996.

MOSCONE, E. A.; KLEIN, F.; LAMBROU, M.; FUCHS, J.; SCHWEIZER, D. Quantitative karyotyping and dual-color FISH mapping of 5S and 18S-25S DNAr probes in the cultivated *Phaseolus* species (Leguminosae). **Genome**, v. 42, n. 6, p. 1224-1233, 1999.

NOBRE, D. A. C.; JUNIOR, D. S. B.; NOBRE, E. C.; SANTOS, J. M. C.; MIRANDA, D. G. S.; ALVES, L. P. Qualidade física, fisiológica e morfologia externa de sementes de dez variedades de feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.). **Revista Brasileira de Biociências**, v. 10, n. 4, p. 425, 2012.

PEDROSA, A.; GITAÍ, J.; SILVA, A. E. B.; FELIX, L. P.; GUERRA, M. Cytogenetics of Angiosperms collected in the State of Pernambuco: V. **Acta Botanica Brasilica**, v. 13, n. 1, p. 49-60, 1999.

PEDROSA-HARAND, A.; DE ALMEIDA, C. C. S.; MOSIOLEK, M.; BLAIR, M. W.; SCHWEIZER, D.; GUERRA, M. Extensive ribosomal DNA amplification during Andean common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) evolution. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 112, n. 5, p. 924-933, 2006.

PEDROSA-HARAND, A.; KAMI, J.; GEPTS, P.; GEFFROY, V.; SCHWEIZER, D. Cytogenetic mapping of common bean chromosomes reveals a less compartmentalized small-genome plant species. **Chromosome Research**, v. 17, n. 3, p. 405-417, 2009.

PEÑALOZA, A. D. P. D. S.; VALLS, J. F. M. Chromosome number and satellited chromosome morphology of eleven species of *Arachis* (Leguminosae). **Bonplandia**, p. 65-72, 2005.

PIGNONE, D.; GALASSO, I.; VENORAL, G. Karyomorphological and heterochromatin similarities among four *Vigna* species. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 42, n. 1, p. 57-60, 1995.

RAMALHO, M. A. P.; DOS SANTOS, J. B. Melhoramento do feijão-fava. **Informativo Agropecuário, Belo Horizonte**, v. 8, n. 90, p. 16-19, 1982.

RAMALHO, M. A. P.; SANTOS, J. B.; PINTO, C. A. B. P. **Genética na Agropecuária**. Lavras: UFLA, 472 p, 2004.

REIS, G. B. D.; ANDRADE-VIEIRA, L. F.; CAMPOS, J. M. S. D.; PEREIRA, A. V.; DAVIDE, L. C. KARYOTYPE ALTERATIONS AFTER HYBRIDIZATION BETWEEN *Pennisetum purpureum* and *Pennisetum glaucum*. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 39, n. 5, p. 443-454, 2015.

ROA, F.; GUERRA, M. Distribution of 45S DNAr sites in chromosomes of plants: structural and evolutionary implications. **BMC evolutionary biology**, v. 12, n. 1, p. 225, 2012.

RODRIGUES, L. S.; ANTUNES, I. F.; TEIXEIRA, M. G.; SILVA, J. D. Divergência genética entre cultivares locais e cultivares melhoradas de feijão-fava. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 37, n. 9, p. 1275-1284, 2002.

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

SARBHOY, R. K. Cytogenetical studies in the genus *Phaseolus* Linn. **Cytologia**, v. 42, n. 3-4, p. 401-413, 1977.

SCHWEIZER, D.; AMBROS, P. F. Chromosome banding: stain combinations for specific regions. **CHROMOSOME ANALYSIS PROTOCOLS**, P. 97-112, 1994.

SILVA, R. N. O.; LOPES, A.C.A.; GOMES, R. L. F.; SILVA, S. C. C. C. E. Caracterização Morfológica de Sementes de Fava do Banco de Germoplasma da Universidade Federal do Piauí. In: Simposium Internacional Sobre Recursos Genéticos De América Latina Y El Caribe - SIRGEALC, 2007, Cidade do México. p. 80, 2007.

SILVA, R. N. O.; BURLE, M. L.; PÁDUA, J. G.; DE ALMEIDA LOPES, Â. C.; GOMES, R. L. F.; MARTÍNEZ-CASTILLO, J. Phenotypic diversity in lima bean landraces cultivated in Brazil, using the Ward-MLM strategy. **CHILEAN JOURNAL OF AGRICULTURAL RESEARCH**, v. 77, p. 1, 2017.

SOUSA, A.M.C.B.; SOARES, J.W.M.; FREITAS, V.S.; GONÇALVES, G.M.C.; SOUSA, P.A.; ASSUNÇÃO NETO, W.V.; LOPES, A.C.A.; GOMES, R.L.F. Divergência genética para caracteres relacionados à produção de grãos em acessos de feijão-fava. In: II Simpósio da Rede de Recursos Genéticos Vegetais do Nordeste, 2015, Fortaleza. **Anais do II Simpósio da RGV Nordeste**. Fortaleza, Embrapa Agroindústria Tropical, 2015.

SOUZA, L. G. R.; CROSA, O.; GUERRA, M. Karyological circumscription of *Ipheion Rafinesque* (Gilliesioideae, Alliaceae). **Plant Systematics and Evolution**, v. 287, n. 3-4, p. 119-127, 2010.

SOUZA, L. G.; CROSA, O.; WINGE, H.; GUERRA, M. The karyotype of *Nothoscordum arenarium* Herter (Gilliesioideae, Alliaceae): a populational and cytomolecular analysis. **Genetics and molecular biology**, v. 32, n. 1, p. 111-116, 2009.

STACE, C. A. Cytology and cytogenetics as a fundamental taxonomic resource for the 20th and 21st centuries. **Taxon**, p. 451-477, 2000.

TAPIA-PASTRANA, F.; MERCADO-RUARO, P.; GÓMEZ-ACEVEDO, S. Contribución a la citogenética de *Tamarindus indica* (Leguminosae: Caesalpinioideae). **Acta botánica mexicana**, n. 98, p. 99-110, 2012.

TEIXEIRA, F. F.; DE SOUZA, B. O.; DE ANDRADE, R. V.; PADILHA, L. **Boas práticas na manutenção de germoplasma e variedades crioulas de milho**. Embrapa Milho e Sorgo. Comunicado técnico, 2005.

VALOIS, A. C. C. A biodiversidade e os recursos genéticos. **Recursos genéticos e Melhoramento de plantas para o Nordeste Brasileiro**. Disponível em: www.cpatsa.embrapa.br/livros/temas, v. 15, 2004.

VIEIRA, R. F.; VIEIRA, C.; DE ANDRADE, G. A. Comparações agronômicas de feijões dos gêneros *Vigna* e *Phaseolus* com feijão-comum (*Phaseolus vulgaris* L.). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 27, n. 6, p. 841-850, 1992.

VILHORDO, B. W.; ARAÚJO, R. S.; RAVA, C. A.; STONE, L. F.; ZIMMERMAN, M. J. O. Morfologia. IN: ARAÚJO, R. S.; RAVA, C. A.; STONE, L. F.; ZIMMERMAN, M. J. O. **Cultura do feijoeiro comum no Brasil**. Piracicaba: Potafos, p.71-99, 1996.

VOLKOV, R. A.; KOMAROVA, N. Y.; HEMLEBEN, V. Ribosomal DNA in plant hybrids: inheritance, rearrangement, expression. **Systematics and Biodiversity**, v. 5, n. 3, p. 261-276, 2007.

WELSH, M. Why we must preserve the value of plant genetic resources in the legume *Phaseolus* genetic diversity or world. **Legume Perspectives**, v. 2, p. 18-19, 2014.

ZHENG, J. Y.; NAKATA, M.; IRIFUNE, K.; TANAKA, R.; MORIKAWA, H. Fluorescent banding pattern analysis of eight taxa of *Phaseolus* and *Vigna* in relation to their phylogenetic relationships. **TAG Theoretical and Applied Genetics**, v. 87, n. 1, p. 38-43, 1993.

ZHENG, J.; NAKATA, M.; UCHIYAMA, H.; MORIKAWA, H.; TANAKA, R. Giemsa C-banding patterns in several species of *Phaseolus* L. and *Vigna* Savi, Fabaceae. **Cytologia**, v. 56, n. 3, p. 459-466, 1991.

ZIMMERMANN, M. J. O.; TEIXEIRA, M. G. Origem e evolução. In: ARAÚJO, R.S.; RAVA, C. A.; STONE, L. F.; ZIMMERMANN, M. J. O. **Cultura do feijoeiro comum no Brasil**. Piracicaba: Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fosfato (POTAFOS), p.786, 1996.