

**GANHOS GENÉTICOS E DIVERSIDADE GENÉTICA ENTRE  
GENÓTIPOS DE FEIJÃO-DE-VAGEM**

**ANDRÉA BARROS SILVA GOMES**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE  
DARCY RIBEIRO – UENF**

**CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ  
JUNHO – 2017**

**GANHOS GENÉTICOS E DIVERSIDADE GENÉTICA ENTRE  
GENÓTIPOS DE FEIJÃO-DE-VAGEM**

**ANDRÉA BARROS SILVA GOMES**

Tese apresentada ao Centro de Ciências e  
Tecnologias Agropecuárias da Universidade  
Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro,  
como parte das exigências para obtenção do  
título de Doutora em Genética e Melhoramento  
de Plantas.

Orientador: Prof. Geraldo de Amaral Gravina

CAMPOS DOS GOYTACAZES, RJ  
JUNHO – 2017

# GANHOS GENÉTICOS E DIVERSIDADE GENÉTICA ENTRE GENÓTIPOS DE FEIJÃO-DE-VAGEM

**ANDRÉA BARROS SILVA GOMES**

Tese apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para obtenção do título de Doutora em Genética e Melhoramento de Plantas.

Aprovada em 13 de março de 2017

Comissão Examinadora:

---

Dr. Roberto dos Santos Trindade (D.Sc., Genética e Melhoramento de Plantas)  
EMBRAPA/Milho e Sorgo

---

Prof. Rogério Figueiredo Daher (D.Sc., Produção Vegetal) – UENF

---

Prof.<sup>a</sup>. Helaine Christine Cancela Ramos (D.Sc., Genética e Melhoramento de Plantas) – UENF  
(Co-orientadora)

---

Prof. Geraldo de Amaral Gravina (D.Sc., Fitotecnia) - UENF  
(Orientador)

*“Bem-aventurado o homem que acha a  
sabedoria, e o homem que adquire o conhecimento.”*

*Pv 3:13*

## **DEDICATÓRIA**

Ao Deus do impossível

À minha família,

Dedico

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente a Deus, que sempre esteve comigo e não me deixou frustrar nos momentos difíceis durante todo o curso de doutorado. A ele toda honra, glória e louvor!

Agradeço aos meus pais José Ribamar e Maria Alzira que sempre me deram força e apoio, estimulando a continuar, pelo exemplo de vida e educação.

Agradeço aos meus irmãos Anderson e Evanderson durante todos os momentos da construção desse trabalho.

Agradeço a toda minha família que de maneira direta ou indireta me ajudaram durante todo esse curso e a conclusão deste.

Agradeço ao meu orientador, Geraldo de Amaral Gravina que sempre ajudou e foi fundamental neste trabalho, pela disposição e competência.

À professora Helaine Christine Cancela Ramos, pelas orientações, sugestões e apoio em todas as etapas do experimento em laboratório.

Agradeço aos membros da banca: Roberto Trindade, Helaine Christine e Rogério Daher pela disponibilidade e interesse em contribuir com o trabalho.

À Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro e ao Programa de Genética e Melhoramento de Plantas pela oportunidade em realizar o curso de doutorado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento do Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa.

Aos Professores do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, pelos ensinamentos.

Às técnicas de laboratório do LMGV Marcela Boechat e Vitória pelo auxílio e condução no experimento laboratorial.

Ao secretário Daniel, pela amizade, aconselhamentos, por estar sempre disponível em nos ajudar.

À família que escolhi em Campos dos Goytacazes, que Deus colocou em minha vida: Alinne Nunes, Claudia Lougon, Daniele Lima, Derivaldo Pureza, Eileen Azevedo, Fernanda Abreu, Geovana Entringer, Lorraine Fonseca, Marcela Boechat e Nádia Fernandes, obrigada pela amizade!

Aos meus amigos do Piauí que concluíram o doutorado na UENF, nessa mesma jornada Claudia Roberta, Erina Vitória e Gislanne Brito.

Ao meu esposo Fernando Gomes, pelo apoio e por sempre me compreender nos momentos de nervosismo, ansiedade e por acreditar no meu potencial.

A todos que acreditaram que esta realização seria possível.

## SUMÁRIO

RESUMO .....	VIII
ABSTRACT .....	X
1. INTRODUÇÃO .....	1
2. OBJETIVOS .....	3
3. CAPÍTULOS .....	4
3.1 GANHO GENÉTICO VIA REML/BLUP E ÍNDICE DE SELEÇÃO EM FEIJÃO- DE-VAGEM .....	4
3.1.1 INTRODUÇÃO .....	4
3.1.2 REVISÃO .....	5
3.1.2.1 ORIGEM E CLASSIFICAÇÃO BOTÂNICA .....	5
3.1.2.2 CARACTERÍSTICAS GERAIS DA CULTURA DO FEIJÃO-DE-VAGEM .....	6
3.1.2.3 MELHORAMENTO GENÉTICO DO FEIJÃO-DE-VAGEM .....	9
3.1.2.4 HISTÓRICO DO PROGRAMA DE MELHORAMENTO DO FEIJÃO-DE-VAGEM DA UENF .....	10
3.1.2.5 IMPORTÂNCIA ECONÔMICA DA CULTURA DO FEIJÃO-DE-VAGEM .....	11
3.1.2.6 ÍNDICE DE SELEÇÃO .....	13
3.1.2.6.1 Índice de Smith e Hazel .....	14
3.1.2.6.2 Índice de Williams (1962) .....	15
3.1.2.6.3 Índice de Pesek & Baker .....	15
3.1.2.6.4 Índice de Mulamba & Mock .....	15
3.1.2.7 Modelos mistos - REML/Blup .....	16



3.1.3 MATERIAL E MÉTODOS.....	18
3.1.3.1 MATERIAL GENÉTICO .....	18
3.1.3.2 CONDUÇÃO DO EXPERIMENTO.....	18
3.1.3.3 ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....	19
3.1.3.3.1 Análise de variância .....	19
3.1.3.3.2 Estimativas dos componentes de variância e dos parâmetros.....	20
3.1.3.3.3 Análise com base em índice de seleção .....	21
3.1.3.3.4 Análise baseada no método REML/Blup.....	22
3.1.3.3.5 Análise do coeficiente de coincidência.....	22
3.1.3.3.6 Análise de desempenho relativo .....	22
3.1.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	23
3.1.4.1 ANÁLISE DE VARIÂNCIA E PARÂMETROS GENÉTICOS .....	23
3.1.5 CONCLUSÕES .....	31
3.2 DIVERSIDADE GENÉTICA ENTRE GENÓTIPOS DE FEIJÃO-DE-VAGEM..	33
3.2.1 INTRODUÇÃO .....	33
3.2.2 REVISÃO .....	34
3.2.2.1 MARCADORES MOLECULARES.....	34
3.2.2.2 MARCADORES ISSR .....	36
3.2.2.3 DIVERSIDADE GENÉTICA E O MELHORAMENTO DE PLANTAS .....	37
3.2.3 MATERIAL E MÉTODOS.....	39
3.2.3.1 MATERIAL GENÉTICO .....	39
3.2.3.2 EXTRAÇÃO DE DNA .....	41
3.2.3.3 PCR - REAÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE .....	42
3.2.3.4 ELETROFORESE EM GEL .....	43
3.2.3.5 ANÁLISE DE DADOS .....	43
3.2.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	44
3.2.5 CONCLUSÕES.....	51
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	52

## RESUMO

GOMES, Andréa Barros Silva; D.Sc.; Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro; Março, 2017; Ganhos genéticos e diversidade genética entre genótipos de feijão-de-vagem. Orientador: Geraldo de Amaral Gravina. Co-orientadora: Helaine Christine Cancela Ramos. Conselheiro: Rogério Figueiredo Daher.

O feijão-de-vagem é uma cultura hortícola, que tem ganhado espaço na culinária brasileira devido a sua composição química, alto teor de proteínas e fácil digestibilidade. Em função dessas características é um alimento com alto potencial no mercado, porém por ser uma cultura agrícola relativamente nova e que exige uma atividade intensiva para o seu cultivo ainda é pouco explorada comercialmente. Para que o cultivo do feijão-de-vagem ganhe representatividade é necessário melhorar geneticamente algumas características, como produtividade, melhoria na qualidade das vagens e resistência a pragas e doenças. O objetivo deste trabalho foi comparar quatro índices de seleção e o método REML/Blup na avaliação de ganhos genéticos preditos e investigar a divergência genética existente na coleção de germoplasma de feijão-de-vagem da UENF. Para avaliação dos ganhos genéticos, foram utilizadas 17 linhagens, em delineamento experimental de blocos ao acaso, com quatro repetições, em quatro ambientes, Bom Jesus de Itabapoana - RJ, nos anos 2011 e 2012 e Cambuci, RJ, nos anos 2011 e 2013. As características avaliadas foram: produtividade de vagens, produtividade de grãos, número de vagens por planta, número de sementes por vagem e peso de 100 sementes. Entre os índices de seleção testados, Mulamba &

Mock foi o que apresentou a melhor distribuição dos ganhos entre as variáveis avaliadas, assim como os maiores coeficientes de coincidência comparado com REML/Blup, resultando em 62% para produtividade de grãos e produtividade de vagens. O método REML/Blup selecionou linhagens com desempenhos relativos altos e obteve ganhos simultâneos entre as características avaliadas, sendo superiores em relação aos índices de seleção testados para a cultura de feijão-de-vagem. As melhores linhagens para as cinco variáveis, simultaneamente, foram: 22 (UENF 14-6-26), 31 (UENF 15-23-113), 1 (UENF 1445), 4 (UENF 7-3-3) e 21 (UENF 14-4-24). Para avaliação da diversidade genética, o DNA foi extraído a partir de folhas jovens de 33 genótipos de feijão-de-vagem. Foram utilizados 16 marcadores ISSR, que revelaram um percentual de 59,53% de polimorfismo, gerando uma média de três locos polimórficos por primer. O índice de Shannon, atingiu o valor de 0,50. A análise pelo método hierárquico UPGMA possibilitou a formação de seis grupos distintos, considerando o coeficiente de correlação cofenética de 0,59. Os genótipos mais distantes foram os genótipos UENF 7-6-6 e UENF 15-25-115 e os mais próximos foram os genótipos UENF 7-3-3 e UENF 7-5-5, no grupo I. Para o futuro do programa de melhoramento da UENF, é necessário a inserção de novos genótipos na coleção de trabalho.

Palavras-chave: hortaliça, vagens, melhoramento genético

## **ABSTRACT**

GOMES, Andréa Barros Silva; D.Sc.; Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro; March, 2017; Genetic gains and genetic diversity among snap bean genotypes. Advisor: Geraldo de Amaral Gravina. Co-advisor: Helaine Christine Cancela Ramos. Committee Member: Rogério Figueiredo Daher.

Snap bean is a horticultural crop widely appreciated in Brazilian cuisine, due to its chemical and organoleptic composition, high protein content and easy digestibility. Due to these characteristics, it is a food with high market potential, but because it is a relatively new agricultural crop that requires intensive activity for its cultivation, it is still little explored commercially. For the cultivation of the snap bean to gain representativeness it is necessary to genetically improve some characteristics, such as productivity, improvement in snap bean quality and resistance to pests and diseases. The goal of this research was to evaluate the four selection indices and the REML/Blup method in the evaluation of predictive genetic gains and to investigate a genetic divergence that exists in the UENF's collection of snap bean germplasm. For the genetic gains, 17 lines were used, in a randomized complete block design, with four replications, in four environments, Bom Jesus de Itabapoana - RJ, in the years 2011 and 2012 and Cambuci, RJ, in the years 2011 and 2013. The evaluated traits were: pod yield, grain yield, number of pods per plant, number of seeds per weight and weight of 100 seeds. Among the selection indexes tested, Mulamba & Mock was the one that showed the better distribution of the gains between evaluated traits, as well as the higher coincidence coefficients compared

to REML / Blup, resulting in 62% for grain yield and pod yield. The REML / Blup method selected lines with high relative performances and obtained simultaneous gains among the evaluated characteristics, being superior in relation to the selection indices tested for the snap bean crop. The best strains for the five variables, simultaneously, were: 22 (UENF 14-6-26), 31 (UENF 15-23-113), 1 (UENF 1445), 4 (UENF 7-3-3) e 21 (UENF 14-4-24). To evaluate genetic diversity, the DNA was extracted from young leaves of 33 bean genotypes. We used 16 ISSR markers, that revealed a percentage of 59.53% polymorphism, generating a mean of three polymorphic loci per primer. The Shanonn index, reached the value of 0.50. The analysis by the hierarchical UPGMA method allowed the formation of six distinct groups, considering the coefficient of co-optic correlation of 0.59. The most distant genotypes were UENF 7-6-6 and UENF 15-25-115 and the closest were genotypes UENF 7-3-3 and UENF 7-5-5 in group I. For the future of the improvement of the UENF, it is necessary to insert new genotypes in the work collection.

Key words: greenery, pods, genetic breeding

## 1. INTRODUÇÃO

O feijão-de-vagem é uma variante do feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.), que apresenta como características vagens com baixo teor de fibras e textura carnosa, com coloração verde-clara e forma plana com 15 a 18 cm de comprimento (Pípolo et al. 2001), sendo esta, maior do que as de feijão-comum, pois este é o produto comercial do feijão-de-vagem.

É uma hortaliça que difere do feijão comum apenas no estágio de colheita das vagens, que ocorre com as vagens ainda imaturas, as quais podem ser utilizadas na alimentação, tanto na forma industrializada como *in natura* (Haesbaert et al., 2011). Face à alta perecibilidade do produto “*in natura*”, o congelamento da vagem está se tornando mais popular (EMBRAPA, 2010b).

O ponto ideal de colheita ocorre assim que atingem máximo desenvolvimento, antes de se tornarem fibrosas. Na colheita, as vagens devem estar ainda tenras, com as extremidades podendo ser vergadas e quebradas sem esforço.

Tradicionalmente, as cultivares de feijão-de-vagem mais cultivadas no Brasil são de hábito de crescimento indeterminado ou trepadoras, que apesar de maiores produções, necessitam de tutoramento e de grande exigência em mão-de-obra, já que mais de uma colheita é realizada ao longo do seu período produtivo e, por terem maior ciclo, são mais sujeitas a ataques de pragas e doenças. Além disso, constituem uma boa alternativa para diversificação da produção na entressafra de

outras olerícolas, como tomate e pepino, pois aproveitam as estruturas de tutoramento e a adubação residual destas hortaliças (Santos et al., 2012).

Há vários problemas a serem resolvidos para aumentar a produtividade e a qualidade do feijão-de-vagem: falta de cultivares com boa adaptabilidade às condições ambientais, suscetibilidade das cultivares às doenças, necessidade de sementes com boa qualidade, etc. Um dos meios para se obter em significativos avanços neste sentido, envolvem investimentos no melhoramento genético desta cultura, utilizando-se de introdução de germoplasma, hibridação, métodos de melhoramento e uso de métodos de avaliação e seleção.

No Brasil, tradicionalmente, pouca atenção tem sido dedicada ao melhoramento do feijão-de-vagem. Geralmente, os agricultores têm sido os principais responsáveis pela seleção e manutenção de cultivares. As populações locais são frequentemente mantidas pelos agricultores ou produzidas comercialmente por companhias de sementes. Além disso, grande esforço tem sido dedicado ao melhoramento genético do feijoeiro destinado ao consumo como grãos, de modo que estão disponíveis no Brasil inúmeras e excelentes cultivares de feijão-comum resistentes a doenças, notadamente à antracnose (Abreu et al., 2003; Pereira et al., 2007). Mas faltam investimentos em pesquisa para melhoramento do feijão-de-vagem, pois não há um programa nacional de avaliação e recomendação de cultivares que poderiam resultar na utilização das mais adaptadas a cada ambiente específico.

Portanto, o objetivo deste trabalho foi comparar índices de seleção com modelos mistos na avaliação de ganhos genéticos preditos em feijão-de-vagem, assim como investigar a divergência na coleção de feijão-de-vagem da UENF.

## 2. OBJETIVOS

**2.1 Objetivo Geral:** Comparar índices de seleção com modelos mistos na avaliação de ganhos genéticos preditos em feijão-de-vagem e investigar a divergência genética existente na coleção de feijão-de-vagem da UENF.

**2.2 Objetivos Específicos:** i) estimar ganhos genéticos preditos em 17 genótipos de feijão-de-vagem via índice de seleção e REML/Blup; ii) inferir sobre divergência genética em 33 genótipos de feijão-de-vagem, via marcadores moleculares ISSR.



### **3 CAPÍTULOS**

#### **3.1 GANHO GENÉTICO VIA REML/BLUP E ÍNDICE DE SELEÇÃO EM FEIJÃO-DE-VAGEM.**

##### **3.1.1 INTRODUÇÃO**

Os programas de melhoramento de feijoeiro no Brasil visam obter cultivares que associem alta produtividade de grãos e fenótipos favoráveis para os demais caracteres de interesse dos agricultores e consumidores.

A possibilidade de prever ganhos é considerada uma das maiores contribuições da genética quantitativa para o melhoramento. Quando diferentes critérios de seleção são considerados, a predição de ganhos referentes a cada critério tem grande importância, pois orienta os melhoristas sobre como utilizar o material genético disponível da melhor maneira possível, visando à obtenção de ganhos máximos para as características de interesse.

A maneira mais prática de obter ganhos em relação a uma única característica é praticar a seleção diretamente sobre esta. Contudo, ao praticar a seleção visando a determinada característica, poderão ocorrer modificações em outras, cujo sentido e magnitude dependerão das características consideradas e da associação entre elas.

Os índices de seleção são geralmente utilizados com o propósito de escolher genótipos superiores, com base em um complexo de variáveis que reúna atributos de interesse do melhorista, de modo a resultar em melhores ganhos simultâneos (Cruz et al., 2004).

Na seleção de linhagens e populações segregantes superiores, devem-se considerar vários caracteres conjuntamente. Entretanto, há dificuldade de encontrar genótipos com alelos favoráveis para todos os caracteres simultaneamente. Nesse sentido, a seleção simultânea de vários caracteres desejáveis é uma alternativa que pode aumentar a probabilidade de sucesso em um programa de melhoramento. Dessa forma, a seleção para mais de um caráter ao mesmo tempo tem sido realizada com o emprego de índices de seleção, que constituem um caráter adicional, estabelecido pela combinação linear ótima de vários caracteres (Bernardo, 2002; Cruz & Carneiro, 2003).

Ramalho et al. (2013) apontam a utilização de modelos mistos como estratégia adequada para maior eficiência do melhoramento de plantas autógamas, pela identificação de progênies ou linhas com maior mérito genotípico. Mendes et al. (2011) utilizaram predições realizadas via BLUP, para identificar progênies e indivíduos superiores dentro de populações segregantes de feijão-comum. Tem sido comprovado o uso de modelos mistos no melhoramento de plantas anuais em diferentes culturas, como arroz (Borges et al., 2010), soja (Pinheiro et al., 2013) milho-pipoca (Freitas et al., 2013), feijão-caupi (Barros et al., 2011) e feijão-comum (Bertoldo et al., 2009).

Apesar da aplicabilidade dos índices de seleção ter sido demonstrada em diversas culturas, em feijão-de-vagem, poucos estudos empregando esta estratégia são encontrados na literatura. Contudo, o objetivo deste trabalho foi estimar ganhos genéticos preditos em feijão-de-vagem via índice de seleção e REML/Blup.

### **3.1.2 REVISÃO**

#### **3.1.2.1 Origem e classificação botânica**

A atual organização da diversidade genética do feijoeiro cultivado em conjuntos gênicos é resultante da evolução nas condições naturais e de cultivo, pois antes da domesticação, a espécie *Phaseolus vulgaris* L. já havia divergido em dois grandes conjuntos de genes, cada um com a sua distribuição geográfica característica (Gepts, 1998).

Considerada uma espécie não cêntrica, ou seja, não possui um centro específico de origem, sua domesticação aconteceu de forma independente dando origem a dois pools gênicos, o andino e o mesoamericano, considerados os dois centros primários de diversidade da cultura do feijoeiro. Esses dois grupos gênicos foram reconhecidos em estudos baseando-se na morfologia, características agrônômicas, fração proteica da semente e diferentes tipos de marcadores moleculares que deram a indicação de dois eventos de domesticação independentes nos dois hemisférios (Bitocchi, 2012).

Até o momento, a hipótese mais creditada referente às origens do feijão indicou que, a partir de uma área central nas encostas ocidentais dos Andes no norte do Peru e do Equador, os grãos silvestres foram dispersos ao norte (para a Colômbia, América Central, e México) e ao sul (para o sul do Peru, Bolívia e Argentina), que resultou nos conjuntos gênicos Mesoamericano e Andino, respectivamente (Bitocchi et al., 2012).

O feijão-de-vagem, bem como o feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) pertence à família Fabaceae que compreende aproximadamente 650 gêneros e 18 mil espécies, distribuídas nas subfamílias Caesalpinoideae, Faboideae e Mimosoideae (Polhill et al., 1981).

Cronquist (1988) classifica-o como pertencente à subclasse Rosidae, ordem Fabales e família Fabaceae. Suas espécies, especialmente o feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.), são amplamente distribuídas no mundo todo e, além de cultivadas nos trópicos também se desenvolvem em zonas temperadas dos hemisférios Norte e Sul. O número exato de exemplares de *Phaseolus* ainda é desconhecido.

### **3.1.2.2 Características gerais da cultura do feijão-de-vagem**

O feijão-de-vagem assim como o feijão comum é uma planta anual diploide ( $2n = 2x = 22$ ), predominantemente autógama com baixa porcentagem de fecundação cruzada (1 a 3%) (Harlan, 1971; 1975).

A planta apresenta caule volúvel, folhas trifolioladas, raízes superficiais, flores brancas ou róseas, dependendo da cultivar, e vagens alongadas. Os frutos em geral são do tipo legume deiscente e raramente indeiscente (Filgueira, 2000).

O racemo, considerado a inflorescência do feijoeiro, é composto por flores perfeitas. Cada flor possui uma corola composta de cinco pétalas brancas, rosadas ou violetas, variável de acordo com a cultivar. A maior das pétalas e mais exposta é denominada de estandarte, as asas são as pétalas menores e as duas últimas soldadas uma a outra formam a quilha (Borém, 2009).

A quilha é retorcida em forma de espiral e envolve completamente os órgãos reprodutores masculino (androceu) e feminino (gineceu) da flor do feijoeiro. O androceu é formado por dez estames considerados diadelfos, ou seja, nove aderentes ao filete e um livre. O gineceu é formado por um ovário em média possuindo de cinco a dez óvulos e um estilete terminado em um estigma recurvado, provido de pêlos (Ramalho, 1982).

Devido à estrutura de sua flor, tem como modo preferencial de reprodução a autogamia, favorecida pelo mecanismo de cleistogamia, onde as flores permanecem fechadas mesmo após o amadurecimento dos órgãos reprodutores. Em consequência disso, a deiscência de pólen e a autopolinização ocorrem quando o botão floral está prestes a se abrir (Borém, 2009). Apesar de sua estrutura floral favorecer a autofecundação, uma taxa de fecundação cruzada natural pode ocorrer, sendo variável com o ambiente e com o genótipo.

Apresenta ampla variabilidade no que diz respeito ao porte da planta, característica de primordial importância por sua relação com o sistema de condução da cultura. As variedades de feijão-de-vagem são diferenciadas entre si principalmente em função de três caracteres básicos: o tipo de vagem, a coloração da vagem e o hábito de crescimento.

Os genótipos com vagem do tipo “manteiga” possuem vagens de formato achatado em toda sua extensão; e o tipo “macarrão”, em que as vagens possuem um formato arredondado, com relação à cor de vagem, existem quatro tipos básicos de colorações que podem ser assumidas pelos genótipos de feijão-de-vagem:

verde-escura, verde-clara, amarela ou púrpura e hábito de crescimento determinado ou indeterminado (Vilhordo et al., 1996; Filgueira, 2003).

Para o feijão-vagem, os estádios de florescimento e frutificação, bem como os componentes de rendimento, como número de vagens, são influenciados por fatores ambientais específicos como quantidade e distribuição da precipitação (Roy *et al.*, 2000), e temperatura (Tsukaguchi *et al.*, 2005). Segundo Dourado e Fancelli (2000), o consumo hídrico do feijoeiro durante seus estádios fenológicos é estimado numa faixa de 300 a 600 mm. No entanto, a distribuição irregular das chuvas nos períodos críticos de desenvolvimento (germinação, florescimento e enchimento de grãos), reduz significativamente seu rendimento final (Carvalho et al., 2014).

O feijão-de-vagem tem ampla adaptabilidade, porém a faixa térmica ideal para a cultura encontra-se entre 17°C e 30°C (Barbosa e Gonzaga, 2012). Em temperaturas mais altas, a produtividade diminui significativamente, pois o pólen é afetado acarretando vagens deformadas. Também é intolerante a frio e a geadas, sendo que temperaturas do ar abaixo de 10°C durante a fase de germinação das sementes podem provocar lesões e redução do vigor das plântulas.

Seu ciclo vegetativo pode durar de 65 a 120 dias variando de acordo com o genótipo e das condições da época de cultivo (Afonso, 2010). A inflorescência do feijão comum é composta por flores perfeitas que variam sua coloração de acordo com sua cultivar.

Tutoramento é uma técnica utilizada na planta de crescimento indeterminado que é trepadeira e exige este trato cultural que é oneroso, razão pela qual o seu custo de produção por área é mais alto, o que é compensado pela maior produtividade.

Para as cultivares de hábito de crescimento indeterminado, o período de colheita inicia-se entre 50 e 70 dias a contar da semeadura e são numerosas e freqüentes (até três vezes por semana), prolongando-se por cerca de 30 dias, dependendo do estado nutricional e fitossanitário das plantas. Já para as cultivares de crescimento determinado, a colheita inicia-se com 45 a 55 dias após semeadura, estendendo-se por duas a três semanas. Aos 60 - 65 dias pós-plantio, pode-se efetuar uma única colheita, com subsequente arranquio das plantas. As vagens são colhidas imaturas com sementes pouco desenvolvidas, sendo o ponto ideal de

colheita quando as vagens atingirem o máximo desenvolvimento, porém antes de tornarem-se fibrosas.

### **3.1.2.3 Melhoramento genético do feijão-de-vagem**

No Brasil, o principal veículo de liberação de novas cultivares de feijão-de-vagem são as empresas privadas de produção de sementes, sendo que muitas destas cultivares são importadas (Rodrigues, 1998).

Pesquisas visando o melhoramento da espécie *P. vulgaris*, tanto com interesse em vagem imatura como em grãos, são de elevada importância. Uma boa cultivar desta hortaliça deve ser vigorosa e produtiva; apresentar razoável resistência a doenças e pragas; produzir vagens de cor verde-clara, com forma e dimensões que satisfaçam às exigências do mercado; possuir sabor agradável e ser desprovida, ao máximo, de fios ou fibras (Castellane et al., 1988; Blanco et al., 1997).

Na escolha dos genitores, para ambos os objetivos, visando hibridação e formação de populações segregantes, devem-se considerar características como qualidade para consumo e/ou industrialização e adaptação das linhagens para cultivo na região de abrangência do programa de melhoramento (Zimmermann et al., 1996).

Além de elevada produtividade, as cultivares de feijão-de-vagem devem possuir outras características agrônomicas desejáveis, incluindo inserção alta das vagens inferiores. O acamamento e/ ou a inserção baixa das vagens inferiores ocasionam o contato das mesmas com o solo, resultando no seu apodrecimento ou favorecendo o surgimento de doenças que depreciam a qualidade do produto (Rava et al., 2003).

Existem no mercado brasileiro cultivares de boa aceitação comercial. Entretanto, não há um programa nacional de avaliação e recomendação de cultivares que poderia resultar na utilização das mais adaptadas a cada ambiente específico. Estudos sobre novas opções são necessários, pois o produtor normalmente tem utilizado apenas as sementes disponíveis no mercado. A indicação de cultivares apropriadas proporciona maior segurança aos produtores, inclusive facilitando a obtenção de crédito e aceitação do produto no mercado (Hamasaki et al., 1998).

As instituições públicas brasileiras que contribuem para o desenvolvimento do feijão-de-vagem destacam-se a Empresa Goiana de Pesquisa e Agropecuária, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Empresa de Pesquisa Agropecuária do estado do Rio de Janeiro (Leal 1990, Peixoto et al. 1993, Castiglioni et al. 1993). Mas as empresas privadas são as principais responsáveis pelo desenvolvimento, produção e liberação de novas cultivares (Rodrigues et al. 1998, Francelino et al. 2011).

O feijão-de-vagem requer pesquisas, principalmente em características que proporcione o aumento da produtividade. Porém, outras características também são almejadas como tipo de planta ereta, a altura de inserção das vagens inferiores e menor teor de fibra, por proporcionar um melhor manejo e uma melhoria na qualidade nutricional das vagens (Sousa 2015).

Para a escolha de um novo genótipo a ser plantado em determinado local, é sempre desejável que existam ensaios visando a seleção dos mais adaptados. Recomendam-se inicialmente plantios em escala experimental e, somente após obtidos resultados animadores, deverão ser feitos plantios em maior escala, com o novo genótipo. Este método é um requisito importante para a indicação de novas cultivares de qualquer hortaliça, pois a resposta de cada genótipo depende do ambiente como um todo principalmente, do clima e do solo (Filgueira, 2003).

Para a empresa produtora de sementes interessam cultivares estáveis que possam ser cultivadas em diferentes ambientes, enquanto que para o produtor seria desejável a utilização de cultivares adaptadas às condições edafoclimáticas dessa região e a tecnologia específica de produção (Peixoto et al., 1993).

Têm sido escassos os trabalhos de melhoramento de feijão-de-vagem no Brasil e as cultivares disponíveis são utilizadas nas diversas regiões, sem levar em consideração as possíveis diferenças de desempenho em ambientes diversos.

#### **3.1.2.4 Histórico do programa de melhoramento do feijão-de-vagem da UENF**

A Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF) iniciou um programa de melhoramento com feijão-de-vagem de hábito indeterminado, com o objetivo de selecionar genótipos produtivos e de qualidade comercial para o Norte e Noroeste Fluminense. O programa teve início com a caracterização e estudo da diversidade genética de 25 acessos do Banco de Germoplasma da UENF, de hábito indeterminado (Abreu et al., 2004). A partir de então foram realizados os

cruzamentos entre cinco acessos divergentes e com características desejáveis, obtendo dez híbridos dialélicos (Silva et al., 2004). Foram realizadas seleções nas populações F<sub>2</sub>, em campo; avançando as gerações F<sub>3</sub>, F<sub>4</sub> e F<sub>5</sub> pelo método SSD (“*single seed descent*” - descendente de uma única semente por planta), em casa de vegetação, abrindo e selecionando linhagens em F<sub>6</sub> (Vilela et al., 2008).

Barbé (2008) estudou a diversidade genética das 120 linhas recombinadas (F<sub>6:7</sub>) de feijão-de-vagem com base em características morfoagronômicas em associação com a genealogia.

A partir daí foram selecionadas 33 linhagens promissoras desta geração F<sub>6</sub> com a qual se realizou um trabalho em três estações experimentais em parceria com a Universidade Estadual do Norte Fluminense: Campos dos Goytacazes (RJ); Itaocara (RJ) e Bom Jesus do Itabapoana (RJ) obtendo a geração F<sub>7</sub> (Vilela 2008). Em seqüência buscou-se a geração F<sub>8</sub> realizando um novo experimento utilizando 27 linhagens selecionadas de feijão-de-vagem da geração F<sub>7</sub> e mais três testemunhas (duas variedades comerciais, FELTRIN, *TOP SEED Blue Line* e um dos progenitores, UENF-1445), de hábito de crescimento indeterminado, do Programa de Melhoramento da Universidade Estadual do Norte Fluminense.

O experimento foi conduzido no período de maio a setembro de 2010. A partir daí, foram conduzidos os ensaios de valor de cultivo e uso (VCU) nos mesmos locais, em experimentos de campo, durante dois anos consecutivos, num delineamento em blocos casualizados com quatro repetições, obtendo-se as gerações F<sub>9</sub> e F<sub>10</sub>, material de estudo deste trabalho.

### **3.1.2.5 Importância econômica da cultura do feijão-de-vagem**

O feijão-de-vagem é um alimento consumido em diversos países. Estima-se que a produção mundial esteja em torno de 6,5 milhões de t/ano (FAO, 2010), sendo a China o principal produtor, seguida por Indonésia e Turquia. No Brasil, ocupa a sexta posição em total produzido, com produção de 56 mil t/ano e consumo de 0,7 kg/pessoa/ano (SIDRA, 2006; CEASA, 2010).

De acordo com a ABCSEM (2015), foi produzido um total de 34868,30 kg ano<sup>-1</sup> para cultivares de crescimento determinado e 86849,09 kg ano<sup>-1</sup> para cultivares de crescimento indeterminados e consumo de 0,7 kg pessoa<sup>-1</sup> ano<sup>-1</sup>. Com área total de 871,72 ha para cultivo determinado e 7237,42 ha para indeterminado.



Dentro das áreas cultivadas em cada estado brasileiro, as principais cultivares utilizadas são de crescimento indeterminado, com vagens de formato cilíndrico ou chato.

Segundo o calendário de comercialização de hortifrutícolas do CEASA-RJ, (Figura 1), o subgrupo Fruto, tende a apresentar no mês de agosto um leve aumento na oferta e queda no preço, já que a vagem manteiga passa da safra fraca para a safra forte (CEASA, 2016).

PRODUTO	JAN	FEV	MAR	ABR	MAI	JUN	JUL	AGO	SET	OUT	NOV	DEZ
Hortaliça   Fruto												
Abóbora	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
Abobrinha	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
Berinjela	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
Chuchu	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
Jiló	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
Milho Verde	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
Pepino	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
Pimentão	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
Quiabo	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
Tomate	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
Vagem Macarrão	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
Vagem Manteiga	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■

Forte ■                      Regular ■                      Fraco □

Fonte: SEINP/DITEC/DIRTEC/CEASA-RJ

**Figura 1.** Calendário de comercialização do CEASA, 2016.

Segundo levantamento da Abcsem (2011), a cadeia produtiva da hortaliça gerou cerca de 154 milhões de reais aos produtores. Segundo (CEASA MINAS-2017), a cotação (varejo), “Preço mais comum nos Estados”, o valor do kg, nos Estados: Minas Gerais, São Paulo, Rio de Janeiro, Espírito Santo é: \$ 3,84; 5,25; 5,25 e 2,05 respectivamente. Em pesquisa de preço no atacado de hortaliças, segundo Boletim Anual realizado pelo (CEASA, 2015), a média para caixa de 15 kg vagem macarrão é de \$ 55,00 e para vagem manteiga é de \$ 40,83.

A região Sudeste do Brasil produz cerca de 37 mil t/ano de feijão-de-vagem, sendo o estado do Rio de Janeiro responsável por 21% dessa produção. No Rio de Janeiro, a média de comercialização de feijão-de-vagem, somando-se todas as

unidades de revenda da Central de Abastecimento (CEASA) é de, aproximadamente, 600 t/mês (CEASA, 2010).

Entre as leguminosas cultivadas no Estado do Rio de Janeiro, o feijão-de-vagem tem se mostrado bastante promissor. O Estado é considerado um dos maiores centros nacionais de produção e comercialização dessa olerícola.

O cultivo de feijão-de-vagem no Rio de Janeiro é tradicional no que se refere à utilização de cultivares trepadoras. As cultivares rasteiras foram introduzidas mais recentemente, sendo escassos os trabalhos destinados a recomendações de cultivares para as diversas regiões produtoras do interior fluminense. O cultivo de feijão-de-vagem é uma opção rentável para os pequenos produtores do norte e noroeste fluminense.

### **3.1.2.6 Índice de seleção**

Conforme Resende (2002), quando a seleção envolve mais de um caráter, três sistemas de seleção podem ser adotados: seleção em “tandem”, níveis independentes de eliminação e índice de seleção. No primeiro, seleciona-se para determinado caráter até atingir o nível desejado e, em seguida, para outros caracteres de interesse. No segundo, níveis mínimos são estabelecidos para cada característica, e todos os indivíduos abaixo deste nível são eliminados. No sistema índice de seleção, consideram-se simultaneamente todos os caracteres de interesse.

Nos programas de melhoramento genético, o emprego do índice de seleção é uma prática bastante utilizada com finalidade de selecionar, simultaneamente, caracteres de interesse agrônômico. Esses índices são constituídos de técnica multivariada que agrupa as propriedades genéticas das progênies testadas com informações relativas a várias características de interesse (Vilela, 2008).

Segundo Garcia e Souza Júnior (1999), índice de seleção é a combinação linear de valores fenotípicos em um único valor, o qual contém informações sobre os méritos e deméritos de cada genótipo para várias características. Nesse contexto, os genótipos selecionados passam a ter uma gama de atributos favoráveis capazes de se adequarem às exigências dos consumidores e produtores rurais (Farias, 2005).

Na busca por cultivares superiores, a utilização da variabilidade genética nos cruzamentos de grupos geneticamente divergentes representa uma importante estratégia para obter ganhos de seleção. Contudo, é possível obter plantas que associem porte ereto, vagens e grãos de tamanho comercialmente aceitável e alta produtividade (Menezes Júnior et al., 2008).

O uso dos índices de seleção é uma ótima alternativa para a obtenção de respostas sobre o ganho de seleção para mais de um caráter, simultaneamente, permitindo obter genótipos com padrões adequados para diversas características de forma mais rápida do que a seleção truncada. Associada a isto, a seleção baseada em um ou poucos caracteres pode gerar alterações indesejáveis em outras, devido a correlações genéticas negativas entre elas (Silva e Viana, 2012). Um método condicionado à eliminação de valores negativos pode ser empregado a fim de que haja apenas ganhos genéticos positivos em cada caráter separadamente, em cada progênie selecionada.

O índice de seleção permite combinar em um único valor as múltiplas informações obtidas para os diferentes caracteres, de modo que seja possível a seleção fundamentada em um valor, envolvendo todos os demais (Cruz; Carneiro, 2006). O índice de seleção nada mais é que uma função linear das diferentes características, e constitui-se num caráter adicional, resultado da ponderação dos caracteres por meio de coeficientes estimados com base nos valores econômicos, variâncias e covariâncias genéticas e/ou informações de interesse dos melhoristas.

#### **3.1.2.6.1 Índice de Smith e Hazel**

O uso de índices de seleção nos programas de melhoramento de plantas foi proposto como critério de seleção por Smith (1936), e posteriormente adaptado ao melhoramento animal por Hazel (1943). De acordo com esses autores, para o estabelecimento do índice de seleção é necessário determinar o valor econômico relativo de cada característica, bem como obter as estimativas das variâncias genotípicas e fenotípicas e das covariâncias fenotípicas e genotípicas entre cada par de características.

Este índice de seleção ficou conhecido como índice de Smith & Hazel, e também como índice clássico, ou índice ótimo por ser um dos primeiros a serem utilizados. Nesse índice é estabelecida uma combinação linear entre os caracteres

de importância econômica, na qual os coeficientes de ponderação são estimados de modo a maximizar a correlação entre o índice e um agregado genotípico. Esse agregado é estabelecido por outra combinação linear envolvendo os valores genéticos, os quais são ponderados pelos respectivos pesos econômicos.

No entanto, várias críticas foram atribuídas ao índice de Smith e Hazel devido principalmente aos erros associados à estimação das matrizes de variâncias e covariâncias genéticas e fenotípicas.

#### **3.1.2.6.2 Índice de Williams (1962)**

Índice base foi sugerido como uma alternativa para evitar a interferência desses erros associados às matrizes de variâncias e covariâncias. Desse modo, o índice base é uma combinação linear dos valores fenotípicos médios dos caracteres, os quais são ponderados diretamente pelos seus respectivos pesos econômicos (Cruz et al., 2012). Apesar disso, ainda persistem os problemas associados à dificuldade da atribuição dos pesos econômicos pelos melhoristas.

#### **3.1.2.6.3 Índice de Pesek & Baker**

Baseia-se nos ganhos desejados para evitar a inexactidão de atribuição de valores aos pesos econômicos. É necessário o uso da média dos genótipos e das matrizes de variância e covariância genotípica e fenotípica. Assim, é possível calcular os coeficientes dos índices sem designar pesos econômicos, e o ganho obtido será máximo para cada característica, de acordo com a importância relativa assumida pelo melhorista na especificação do ganho desejado. Nesse índice os pesos econômicos são substituídos pelos ganhos desejados. Assim, a importância que o melhorista atribui aos caracteres se traduz por meio da intensidade de seleção aplicada.

#### **3.1.2.6.4 Índice de Mulamba & Mock**

Baseado na soma de postos ou ranks, que consiste em classificar os materiais genotípicos em relação a cada uma das características, em ordem favorável ao melhoramento. Consiste na soma do número de ordem que o genótipo

apresenta para o carácter mencionado em ordem favorável de melhoramento. Quanto menor o valor obtido, melhor a classificação. Assim, uma vez classificados são somadas as ordens de cada genótipo referente a cada carácter (Cruz et al., 2012).

Por ser um índice não paramétrico, apresenta a vantagem de não necessitar de pesos econômicos nem da estimação de parâmetros além das médias. O índice da soma de postos é baseado no ordenamento dos genótipos quanto ao carácter desejado e, posteriormente, na soma destes postos baseada nos múltiplos caracteres (Teixeira et al., 2012).

### **3.1.2.7 Modelos mistos - REML/Blup**

A inferência sobre os genótipos, em qualquer fase de um programa de melhoramento, deve ser baseada em médias genotípicas e não fenotípicas, pois as médias genotípicas são as médias futuras quando as cultivares forem plantadas em cultivos comerciais (Borges et al., 2010). Para auxiliar nesta seleção, ou seja, na predição dos valores genéticos dos genótipos superiores, ferramentas como os métodos de estimação BLUP (Melhor predição linear não viciada) e REML (Método de máxima verossimilhança restrita) são bastante úteis.

A teoria genérica do BLUP como procedimento ótimo foi difundida completamente a partir da década de 1970 pelos cientistas Charles Henderson nos EUA e Robin Thompson na Inglaterra, dentre outros (Henderson, 1973, 1975, 1976; Thompson 1976, 1977, 1979).

Para a aplicação do BLUP são necessárias estimativas fidedignas de componentes de variância. O método ótimo de estimação de componentes de variância, com dados desbalanceados ou não, é o REML desenvolvido por Patterson e Thompson (1971) e Thompson (1973, 1977, 1980).

O procedimento REML/BLUP passou a ser usado rotineiramente no melhoramento animal no exterior a partir da década de 1980. No Brasil, em gado de leite, passou a ser usado a partir de 1994 (Verneque e Valente, 2001). Isto se deve ao desenvolvimento de *softwares* específicos que permitem tratar adequadamente a matriz de parentesco genético aditivo entre os indivíduos em avaliação.

A disponibilidade de *softwares* conduziu ao início da aplicação do procedimento REML/ BLUP individual ao melhoramento florestal em nível individual a partir de 1995 (Borralho et al., 1995). Em outras palavras, modelos eram ajustados sem se saber exatamente como as várias informações eram usadas e se o modelo ajustado era ótimo.

A análise REML requer repetidas fatorações e inversões da matriz dos coeficientes das equações de modelo misto. Este fato tem levado os pesquisadores a utilizarem diferentes técnicas de análise numérica visando diminuir a necessidade de recursos computacionais associada ao uso do procedimento REML.

A predição de valores genéticos e os métodos de seleção dependem, essencialmente, de estimativas de componentes de variância, os quais podem ser estimados pelo método dos quadrados mínimos, tais como os procedimentos de análise de variância (ANOVA). Estes procedimentos se reduzem à usual análise de variância quando os dados são balanceados, sendo os efeitos do modelo testados via teste F. Porém, para uso da seleção genética em dados desbalanceados e com efeitos de natureza distinta, as estimativas fornecidas não são exatas e se mostram tendenciosas perante o erro (Henderson, 1953).

O procedimento REML estima componentes de variância necessários ao modelo e o BLUP (*Best Linear Unbiased Prediction*), melhor preditor linear não viesado, estima o valor genotípico (Resende, 2007), conduzindo à maximização do ganho genético por avaliar e ordenar os indivíduos candidatos à seleção com precisão, e por gerar estimativas não tendenciosas dos parâmetros (Hayes; Hill, 1980). Isto faz da avaliação genética pelos modelos mistos, um instrumento mais eficaz que o da avaliação partindo de estimativas pelo método dos mínimos quadrados (Resende, 2002).

Os modelos mistos desenvolvidos por Henderson (1973) são utilizados para descrever dados de experimentos cuja estrutura de tratamentos envolve alguns fatores que são fixos e alguns que são aleatórios, ou seja, modelos lineares que contêm efeitos fixos e aleatórios, independentemente da média e do erro.

### 3.1.3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1.3.1 Material Genético

Foram utilizados 17 genótipos de feijão-de-vagem na geração F<sub>9-10</sub> sendo três testemunhas e as demais linhagens oriundas do Programa de Melhoramento de feijão-de-vagem da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF) (Tabela 1).

**Tabela 1.** Genótipos de feijão-de-vagem avaliados em Bom Jesus de Itabapoana – RJ e Cambuci – RJ, com seus respectivos progenitores.

Número dos genótipos	Genótipos selecionados <sup>1/</sup>	Progenitores
1	Progenitor 19 (UENF 1445)	-
2	Feltrin	-
3	<i>Top Seed Blue Line</i>	-
4	UENF 7-3-3	UENF 1442 x UENF 1429
5	UENF 7-4-4	UENF 1442 x UENF 1429
6	UENF 7-5-5	UENF 1442 x UENF 1429
7	UENF 7-6-6	UENF 1442 x UENF 1429
9	UENF 7-9-9	UENF 1442 x UENF 1429
10	UENF 7-10-10	UENF 1442 x UENF 1429
11	UENF 7-12-42	UENF 1442 x UENF 1429
12	UENF 7-14-44	UENF 1442 x UENF 1429
13	UENF 7-20-50	UENF 1442 x UENF 1429
18	UENF 9-3-23	UENF 1448 x UENF 1429
20	UENF 9-27-97	UENF 1448 x UENF 1429
21	UENF 14-4-24	UENF 1448 x UENF 1442
22	UENF 14-6-26	UENF 1448 x UENF 1442
31	UENF 15-23-113	UENF 1448 x UENF 1445

<sup>1/</sup>Primeiro número = População; Segundo número = Família; Terceiro número = linha.

#### 3.1.3.2 Condução do experimento

Os experimentos foram conduzidos em dois locais por dois anos: Instituto Federal Fluminense, Campus Bom Jesus de Itabapoana – RJ, em maio de 2011 e 2012 e Campus Cambuci - RJ, em maio de 2011 e 2013.

Utilizou-se o delineamento de blocos casualizados com quatro repetições, sendo avaliadas plantas individuais dentro de cada repetição. O espaçamento adotado foi de 1 m entre fileiras e 0,50 m entre plantas. A unidade experimental foi constituída de uma linha de 5m, utilizando para avaliação, 8 plantas centrais, deixando-se 2 plantas das extremidades como bordadura. Os valores são reais obtidos por parcela de 10 plantas e estimados para 1 hectare.

Para semeadura, foram utilizadas duas sementes por cova, a uma profundidade de 2,5 cm. Dez dias após a emergência, realizou-se o desbaste, a fim de deixar apenas uma planta por cova nos dois locais.

As plantas foram tutoradas com bambu e arame após a emergência, cerca de quinze dias. Durante a condução do experimento, foram realizados os tratos culturais e fitossanitários recomendados para a cultura e irrigação por aspersão. Foram realizadas dez colheitas, uma por semana.

Foram avaliadas individualmente as seguintes características: produtividade de vagens ( $t_{ha}^{-1}$ ); produtividade de grãos ( $t_{ha}^{-1}$ ); número médio de vagens por planta; número médio de sementes por vagem e peso de 100 sementes.

### 3.1.3.3 Análises estatísticas

#### 3.1.3.3.1 Análise de variância

A análise de variância foi realizada por ambiente e, posteriormente verificada a homogeneidade das variâncias residuais (QMRs), por meio da relação entre o maior e o menor QMR (Pimentel Gomes e Garcia, 2002). A seguir, foi realizada as análises de variância conjunta, considerando o delineamento de blocos casualizados, com base no seguinte modelo estatístico:

$$Y_{ijk} = m + G_i + B/A_{jk} + A_j + GA_{ij} + E_{ijk}$$

Em que:

$Y_{ijk}$  = efeito do i-ésima observação, no j-ésimo ambiente e no k-ésimo bloco

$m$  = constante geral;



$Gi$  = efeito aleatório de genótipo  $i$ ;

$B/A_{jk}$  = efeito do bloco  $k$ , no ambiente  $j$ ;

$A_j$  = efeito aleatório de ambiente  $j$ ;

$GA_{ij}$  = efeito de interação entre o genótipo  $i$  e o ambiente  $j$ ;

$E_{ijk}$  = efeito do erro experimental associado à observação,  $Y_{ijk}$ , considerando  $E_{ijk} \sim \text{NID}(0, \sigma^2)$ .

As análises estatísticas foram feitas por meio do Programa Genes (Cruz, 2013).

### 3.1.3.3.2 Estimativas dos componentes de variância e dos parâmetros

Para a estimação dos parâmetros relacionados à análise conjunta, foram utilizados os estimadores:

a) Coeficiente de variação genético;

$$CV_g = 100 \left( \frac{\sqrt{\sigma^2}}{m} \right) = 100 \left( \frac{\sqrt{\frac{QMF - QMR}{ar}}}{m} \right)$$

Em que:

$\sigma^2$  = Variância genotípica entre famílias;

$m$  = média;

**QMF** = quadrado médio de famílias;

**QMR** = quadrado médio do resíduo;

**a** = número de ambientes;

**r** = número de repetições.

b) Coeficiente de variação experimental:

$$CV_e(\%) = 100 \left( \frac{\sqrt{\sigma_e^2}}{m} \right) = 100 \left( \frac{\sqrt{QMR}}{m} \right)$$

Em que:

$\sigma_e^2$  = variância média residual;

**QMR** = quadrado médio residual.

c) Herdabilidade com base na média:

$$h^2 = \frac{\sigma_g^2}{\sigma_f^2} = \frac{QMF - QMR}{QMF}$$

Em que:

$\sigma_g^2$  = variância genotípica entre famílias;

$\sigma_f^2$  = variância fenotípica entre famílias.

d) Índice de variação

$$I_v(\%) = 100 \left( \frac{CV_g}{CV_e} \right)$$

$CV_g$  = Coeficiente de Variação Genético;

$CV_e$  = Coeficiente de Variação Experimental.

### 3.1.3.3 Análise com base em índice de seleção

Os índices de seleção de Smith (1936), Hazel (1943), Williams (1962), Pesek & Baker (1969) e Mulamba & Mock (1978) foram testados com o objetivo de selecionar 8 linhagens superiores com intensidade de seleção de 47%. Nas análises estatísticas foram atribuídos valores por tentativas (1,1,50,50,100) para cinco características avaliadas. A seleção das linhagens com base em índices de seleção foi realizada com uso dos recursos computacionais GENES (Cruz, 2013).

Visando aumentar a confiabilidade dos resultados obtidos, foi utilizado também o índice com base na soma de “ranks” (Mulamba; Mock, 1978), o qual tem sido indicado na literatura por proporcionar melhores ganhos simultâneos em várias situações (Costa et al., 2004; Santos et al., 2007). Foi utilizado Mulamba-Rank, modelo 101, utilizando o programa Selegen (Resende, 2007).

#### **3.1.3.3.4 Análise baseada no método REML/Blup**

Para o método de modelos mistos, as análises foram realizadas com auxílio do programa Selegen Windows – REML/Blup (Resende, 2007), com o modelo estatístico 114 (Avaliação em vários locais e em vários anos – Culturas Anuais; Delineamento em Blocos Completos com Interação Tripla e Estabilidade e Adaptabilidade), “Interação Locais e Anos”:

$$y = Xf + Zg + Qa + Ti + Wt + \varepsilon$$

Em que:

y é o vetor de dados;

f é o vetor dos efeitos das combinações repetição-local-ano (assumidos como fixos) somados à média geral;

g é o vetor dos efeitos genotípicos (assumidos como aleatórios);

a é o vetor dos efeitos da interação de genótipos com anos (aleatórios);

i é o vetor dos efeitos da interação genótipos x locais;

t é o vetor dos efeitos da interação tripla genótipos x locais x anos (assumidos como aleatórios);

$\varepsilon$  é o vetor de erros ou resíduos (aleatórios).

As letras maiúsculas representam as matrizes de incidência para os referidos efeitos. O vetor f contempla os efeitos de repetições dentro de locais dentro de anos, de locais, de anos e interação locais x anos.

#### **3.1.3.3.5 Análise do coeficiente de coincidência**

O índice de coincidência foi obtido por meio da relação entre o dobro do número de linhagens, em que ambos os índices de seleção coincidem, e a soma do número total de linhagens que contém o índice de seleção A mais o número total de linhagens que contém o índice de seleção B (Pedrozo et al., 2009).

#### **3.1.3.3.6 Análise de desempenho relativo**

O desempenho relativo de cada linhagem selecionada foi calculado pela relação entre a nova média da população melhorada e a nova média da população melhorada de maior valor genético das 17 linhagens selecionadas, dado em percentagem.

### **3.1.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

#### **3.1.4.1 Análise de variância e parâmetros genéticos**

Inicialmente foi feita uma análise de variância individual para cada ambiente isoladamente, a fim de testar a homogeneidade dos quadrados médios do erro aplicando o teste de Hartley. Após constatar a homogeneidade, procedeu-se à análise de variância conjunta.

As estimativas dos valores e as significâncias dos quadrados médios (QM), bem como as médias, os coeficientes percentuais da variação experimental (Cv<sub>e</sub>), do coeficiente de variação genético (Cv<sub>g</sub>), do índice de variação (Iv), da herdabilidade média ( $h^2$ ), das 5 características avaliadas em feijão-de-vagem para quatro ambientes (Tabela 2). Verificou-se efeito significativo dos genótipos com ( $P < 0,01$ ) e ( $P < 0,05$ ) de probabilidade para todas as características avaliadas, com exceção de peso de 100 sementes que não foi significativo. Estes resultados denotam existir suficiente variabilidade genética entre os genótipos avaliados, o que possibilita êxito na seleção de genótipos promissores. Os efeitos da interação genótipo x ambiente foram todos significativos. A interação significativa indica que a resposta dos genótipos não foi coincidente nos diferentes ambientes, encontram-se na Tabela 2.

**Tabela 2.** Resumo da análise de variância com os respectivos quadrados médios (QM), graus de liberdade (GL) e parâmetros de cinco características avaliadas em quatro ambientes, em genótipos de feijão-de-vagem.

FV	QM <sup>1/</sup>					
	GL	PV	PG	NVP	NSV	P100S
Blocos/Ambientes	12	202,28	2608551,43	649,43	0,74	17,10
Genótipos	16	88,35*	4769316,29*	1287,84*	2,75*	324,27 <sup>ns</sup>
Ambientes	3	2962,54 <sup>ns</sup>	330196,57 <sup>ns</sup>	8616,49 <sup>ns</sup>	1,28*	251,86 <sup>ns</sup>
G x A	48	53,91*	896148,54*	233,08**	1,00*	17,35*
Resíduo		27,56	653937,38	147,50	0,67	11,73
Média		28,84	3740,00	65,65	8,43	33,70
Parâmetros <sup>2/</sup>						
CVe		18,20	21,62	18,49	9,70	10,16
CVg		5,16	13,15	12,36	3,91	12,99
lv		0,28	0,60	0,66	0,40	1,27
h <sup>2</sup>		40,11	81,21	81,90	63,56	94,64

<sup>1/</sup>PV= produtividade de vagens (t.ha<sup>-1</sup>); PG = produtividade de grãos(t.ha<sup>-1</sup>); NVP = número de vagens por planta; NSV = número de sementes por vagem; P100S = peso de 100 sementes.

<sup>2/</sup> = CVg = coeficiente de variação genética; CVe = coeficiente de variação experimental; lv = índice de variação; e h<sup>2</sup> = herdabilidade com base na média de famílias.

<sup>ns, \*\*</sup> = não significativo, significativo em p<0,01 e p<0,05, respectivamente pelo teste F.

O conhecimento das estimativas dos parâmetros permite ao melhorista definir a melhor estratégia de seleção no melhoramento de plantas (Cruz et al., 2012). Na Tabela 2, os valores de coeficiente de variação experimental (CVe) variaram de 9,70 a 21,62%, sendo que os caracteres PV, NVP, NSV e P100S expressaram valores abaixo de 20%, cujas magnitudes são consideradas como de boa precisão (Pimentel Gomes, 2000).

Estes coeficientes de variação comprovam aceitável precisão experimental para todas as características avaliadas. Os valores de CVe foram superiores aos do CVg (variou de 3,91 a 13,15), resultando em estimativas de índice de variação (lv) abaixo de 1,0, com exceção para P100S que obteve lv 1,27.

O coeficiente de variação genética (CVg), expressa a quantidade de variação genética existente e possibilita ao melhorista ter uma noção da grandeza relativa das mudanças que podem ser obtidas por meio de seleção ao longo de um programa de melhoramento. Pode-se observar na Tabela 2 que o CVg para produtividade de grãos destacou-se com o valor de 13,15, seguido da característica peso de 100 sementes com 12,99.

As estimativas de herdabilidade foram de magnitude média a alta para todos os caracteres, variando de 40,11% para produtividade de vagens e 81,90% para número de vagens por planta, desta forma, com elevados valores de herdabilidade, a seleção poderá ser conduzida com grande possibilidade de sucesso para todas as características de interesse. Marcondes et al. (2012) consideram a herdabilidade o melhor parâmetro para fazer qualquer inferência sobre o sucesso do melhoramento em um caráter.

Houve diferença significativa entre os genótipos, o que significa que a resposta dos genótipos não foi coincidente nos diferentes ambientes. As interações foram desmembradas em dois sentidos, tratamento (genótipos) dentro de ambientes (Gen/Amb) e ambientes dentro de tratamentos (Amb/Gen).

Na tabela 3 contém os ganhos percentuais preditos para o índice de seleção Pesek e Baker, Smith e Hazel, Williams e Mulamba e Mock, utilizando pesos atribuídos por tentativas (1,1,50,50,100), comparando com o método REML/Blup com base nas características produtividade de vagens, produtividade de grãos, número de vagens por planta, número de sementes por vagem e peso de 100 sementes.

**Tabela 3.** Estimativas dos ganhos percentuais com base no diferencial de seleção em cinco características em linhagens de feijão-de-vagem.

Variáveis	Índice de seleção				REML/ Blup
	Pesek & Baker	Smith & Razel	Mulamba & Mock	Williams	
PV	-0,03	0,13	0,83	1,87	6,31
PG	5,16	7,83	8,92	8,35	15,23
NVP	-2,78	2,89	2,65	4,04	14,10
NSV	0,24	-0,33	0,35	-0,01	4,69
P100S	9,69	6,24	7,02	5,19	16,47

PV = produtividade de vagens; PG = produtividade de grãos; NVP = número de vagens por planta; NSV = número de sementes por vagem; P100S = peso de 100 sementes.

As características peso de vagens e número de vagens por planta, apresentaram ganhos negativos de -0,03 e -2,78, respectivamente, pelo índice Pesek e Baker, o que é indesejável. Portanto, o índice Pesek e Baker não é recomendado para seleção, já que o principal objetivo é a melhoria simultânea das

características avaliadas (Tabela 3). De modo semelhante, Bárbaro et al. (2007) também não obtiveram resultados satisfatórios com este índice para seleção de genótipos superiores em soja.

O índice Mulamba & Mock apresentou as melhores distribuições de ganhos entre as variáveis avaliadas, tornando-os adequado para seleção de genótipos neste trabalho. Este índice foi indicado em outros trabalhos, como os que propiciaram melhores resultados para a seleção de genótipos superiores, como os verificados em batata (Barbosa e Pinto, 1998), feijão-de-corda (Santos e Araújo, 2001), soja (Costa et al., 2004), alfafa (Vasconcelos et al., 2010) e milho-pipoca (Freitas et al., 2013).

Trabalhando com seleção recorrente recíproca com famílias de irmãos completos entre as variedades braquíticas de milho “Piranão” e “Cimmyt”, Berilli et al. (2013) mostram que o índice de Mulamba & Mock, entre os índices testados, foi o que mais se adaptou aos objetivos do programa, ou seja, os ganhos preditos com o índice de seleção Mulamba & Mock foram superiores aos preditos com os outros índices.

A metodologia REML/Blup, foi a mais eficiente em relação aos outros índices testados, pois houve melhoria simultânea das características: produtividade de vagens, produtividade de grãos, número de vagens por planta e peso de 100 sementes, 6,31, 15,23, 14,10 e 16,47, de ganhos percentuais, respectivamente (Tabela 3). Essa metodologia tem sido utilizada com sucesso em várias culturas, como café (Pereira et al., 2013), milho-pipoca (Freitas et al., 2013), cupuaçu (Santos et al., 2014), trigo (Pimentel et al., 2014), maracujazeiro (Assunção et al., 2015), feijão-caupi (Torres et al., 2015).

No melhoramento de *Phaseolus vulgaris*, Mendes et al. (2011) utilizaram predições realizadas via Blup, para identificar progênies e indivíduos superiores dentro de populações segregantes. Chiorato et al., (2008) recomendam o REML/Blup para orientação de programas de melhoramento de feijão e Coimbra et al. (2005), para o melhoramento de aveia.

As diferenças nas estimativas dos ganhos preditos entre Mulamba & Mock e REML/Blup podem ser explicadas pelo fato de o índice de Mulamba & Mock ser formado pelas combinações lineares das medidas de diversos caracteres com base em estimativas de parâmetros genéticos e médias fenotípicas obtidas pelo método da análise de variância. Já o método REML/BLUP utiliza, na construção de índices,

os componentes de variância estimados pela máxima verossimilhança restrita (REML) e os valores genéticos ou genotípicos preditos pelo melhor preditor linear não viciado (BLUP) (Resende, 2002).

Por conseguinte, resulta em um processo de seleção mais acurado, uma vez que emprega como vetor das soluções os efeitos genotípicos preditos e os ganhos de seleção de cada família, o que corrige os valores para os efeitos ambientais, prediz de maneira precisa e não viciada os valores genotípicos e conduzindo à maximização do ganho genético com a seleção (Resende e Sturion, 2001; Rodrigues et al., 2013).

Na tabela 4 contém os coeficientes de coincidência para 8 linhagens selecionadas, para os quatro índices e o método REML/Blup, considerando duas características mais importantes para a cultura de feijão-de-vagem, que são: produtividade de vagens e produtividade de grãos. Os valores foram altos, variando de 50% a 87%. De acordo com Pedrozo et al., (2009), quanto maior o coeficiente de coincidência entre dois índices de seleção, maior será a concordância dos resultados de seleção entre eles.

Ao comparar os índices de seleção com o método REML/Blup, os maiores coeficientes de coincidência de linhagens selecionadas foram obtidos com o índice de Smith & Hazel: 75% para produtividade de grãos (Tabela 4). Para produtividade de vagens, todos os índices apresentaram o coeficiente de coincidência de 62%, com exceção do índice Pesek & Baker que foi de 50%. Esse resultado pode ser explicado pelo fato da metodologia REML/Blup utilizar, como vetor de soluções, os efeitos genotípicos preditos e os ganhos de seleção individualmente, exclui totalmente o efeito de ambiente.



**Tabela 4.** Coeficientes de coincidência de 8 linhagens selecionadas com uso dos índices de seleção e do método REML/Blup, quanto às características produtividade de vagens acima da diagonal e produtividade de grãos abaixo na diagonal, em feijão-de-vagem.

Índice de Seleção	Pesek & Baker	Smith & Razel	Mulamba & Mock	Williams	REML/Blup
Pesek & Baker	-	0,62	0,62	0,62	0,50
Smith & Razel	0,62	-	0,75	0,75	0,62
Mulamba & Mock	0,50	0,75	-	0,87	0,62
Williams	0,62	0,75	0,87	-	0,62
REML/Blup	0,62	0,75	0,62	0,62	-

Segundo Cruz e Regazzi (2004), a utilização de índices de seleção é uma alternativa eficiente para aumentar a chance de êxito no programa de melhoramento, pois permite reunir com base em um complexo de variáveis, vários atributos desejáveis de interesse agrônômico e econômico. Esses autores acreditam que a utilização de índices de seleção é uma alternativa eficiente para evitar a rejeição do genótipo pelos agricultores e aumenta a chance de êxito no programa de melhoramento, pois permite reunir, com base em um complexo de variáveis, vários atributos desejáveis de interesse agrônômico e econômico. Resende (2002) apresenta alguns índices baseados em agregado genotípico, que é um conceito similar ao da adaptação (*fitness*), utilizado pelos evolucionistas para representar um conjunto de caracteres adaptativos sob seleção natural. O índice de Mulamba-Rank (Resende, 2002) tem a vantagem de não necessitar estabelecer pesos econômicos e estimar variâncias e covariâncias.

Os genótipos foram ranqueados pela metodologia Mulamba-Rank. Nota-se que as linhagens 22, 31 demonstraram melhor resposta à seleção a partir dos múltiplos caracteres estudados (Tabela 5), com porcentagem de ganho de 800 e 500, sobre o rank médio de 14,6 e 13,6, respectivamente, indicando que é possível promover o efetivo aumento da concentração de alelos favoráveis das características estudadas na população. O índice de seleção de rank médio de Mulamba e Mock mostrou-se promissor, identificando os genótipos superiores com melhor desempenho que as testemunhas.

**Tabela 5** - Rank médio das 17 linhagens de feijão-de-vagem e seus respectivos ganhos múltiplos (%), com a seleção pela metodologia de Mulamba-Rank, envolvendo cinco características.

Genitor	Rank Médio	Ganho (%)
(22) 14-6-26	14,6	800
(31) 15-23-113	13,6	500
<b>(1)UENF 1445</b>	10,8	350
(4) 7-3-3	10,4	260
(21) 14-4-24	10,2	200
(5) 7-4-4	9,8	157
(11) 7-12-42	9,8	125
(9) 7-9-9	9,6	100
(18) 9-3-23	9,4	80
(10) 7-10-10	9,2	63
(6) 7-5-5	8,6	50
(12) 7-14-44	7,2	38
(7) 7-6-6	6,6	28
<b>(3)Top Seed</b>	6,4	20
(13) 7-20-50	6,4	12
(20) 9-27-97	5,6	5
<b>(2)Feltrin</b>	4,8	0

No processo de seleção, valores genotípicos devem ser os preferíveis pelos melhoristas, ou seja, a seleção deve ser embasada em médias genotípicas. O método REML/Blup mostrou-se mais eficiente em relação aos índices de seleção, provavelmente por excluir o efeito de ambiente, tendo selecionado linhagens com desempenhos relativos elevados e com ganhos genéticos preditos promissores para a cultura de feijão-de-vagem (Tabela 6 e 7).

O desempenho relativo das progênes foi alto, em que as linhagens selecionadas apresentaram estimativas acima de 79%, tanto para PV quanto para PG, o que é evidência da acurácia seletiva da metodologia REML/Blup. Estudo feito por Borges et al. (2010) mostra que os valores genotípicos são bem próximos da nova média e vice-versa. Assim, pode-se inferir que esta metodologia foi eficiente em selecionar progênes com desempenhos relativos elevados.

**Tabela 6** - Ranqueamento e estimativas de 17 linhagens, efeitos (g), valores genotípicos preditos (u+g), da nova média (Blup) e desempenho relativo (DR), quanto à característica produtividade de vagens em feijão-de-vagem.

Ranque	Produtividade de vagens					
	Linhagem	g	u+g	Ganho	Nova média	DR(%)
7	7-6-6	5,16	33,66	5,16	33,66	100
12	7-14-44	3,36	31,86	4,26	32,76	97,32
6	7-5-5	2,75	30,59	3,76	32,26	95,84
2	<b>Feltrin</b>	2,09	29,58	3,34	31,84	94,59
1	<b>UENF 1445</b>	1,08	29,55	2,89	31,39	93,25
13	7-20-50	1,05	28,37	2,58	31,08	92,33
18	9-3-23	-0,12	28,10	2,19	30,69	91,17
20	9-27-97	-0,38	27,71	1,87	30,37	90,22
3	<b>Top Seed</b>	-0,78	27,45	1,58	30,07	89,33
9	7-9-9	-1,08	27,30	1,31	29,81	88,56
11	7-12-42	-1,19	27,04	1,08	29,58	87,87
5	7-4-4	-1,45	27,01	0,87	28,37	84,28
22	14-6-26	-1,48	26,74	0,69	29,19	86,72
4	7-3-3	-1,75	26,33	0,51	29,01	86,18
21	14-4-24	-2,16	25,97	0,33	28,83	85,65
31	15-23-113	-2,52	25,93	0,15	28,65	85,11
10	7-10-10	-2,55	27,22	0,00	28,49	84,64

**Tabela 7** - Ranqueamento e estimativas de 17 linhagens, efeitos (g), valores genotípicos preditos (u+g), da nova média (Blup) e desempenho relativo (DR), quanto à característica produtividade de grãos em feijão-de-vagem.

Ranque	Linhagem	Produtividade de grãos		Ganho	Nova média	DR(%)
		G	u+g			
2	<b>Feltrin</b>	0,95	4,70	0,95	4,70	100
20	9-27-97	0,61	4,36	0,78	4,53	96,38
3	<b>Top Seed</b>	0,49	4,24	0,68	4,43	94,25
13	7-20-50	0,19	3,94	0,56	4,31	91,70
12	7-14-44	0,18	3,93	0,48	4,24	90,21
7	7-6-6	0,18	3,93	0,43	4,18	88,93
5	7-4-4	0,02	3,77	0,37	4,12	87,65
21	14-4-24	-0,01	3,73	0,32	4,08	86,80
10	7-10-10	-0,06	3,68	0,28	4,03	85,74
6	7-5-5	-0,06	3,68	0,25	4,00	85,10
9	7-9-9	-0,09	3,65	0,21	3,97	84,46
18	9-3-23	-0,17	3,57	0,18	3,93	83,61
11	7-12-42	-0,19	3,55	0,15	3,90	82,97
4	7-3-3	-0,36	3,38	0,11	3,87	82,34
31	15-23-113	-0,38	3,36	0,08	3,83	81,48
1	<b>UENF 1445</b>	-0,59	3,15	0,04	3,79	80,63
22	14-6-26	-0,68	3,06	0,00	3,75	79,78

### 3.1.5 CONCLUSÕES

1 - A seleção simultânea, com base no índice de seleção de rank médio de Mulamba e Mock, mostrou-se promissora, identificando dois genótipos superiores as testemunhas, 22 (UENF 14-6-26), 31 (UENF 15-23-113);

2 – O método REML/Blup se mostrou muito mais eficiente do que os índices de seleção, tendo selecionado linhagens com desempenho relativos elevados e com ganhos genéticos preditos promissores;

3 – As melhores linhagens para as cinco variáveis, simultaneamente, foram: 22 (UENF 14-6-26), 31 (UENF 15-23-113), 1 (UENF 1445), 4 (UENF 7-3-3) e 21 (UENF 14-4-24).

## **3.2 DIVERSIDADE GENÉTICA ENTRE GENÓTIPOS DE FEIJÃO-DE-VAGEM**

### **3.2.1 INTRODUÇÃO**

Nos programas de melhoramento convencional, a seleção de genótipos é feita com base nas informações fenotípicas. Contudo, com o advento dos marcadores moleculares, foi possível a sua utilização como ferramentas auxiliares na seleção de genótipos superiores.

A utilidade prática de qualquer marcador molecular na caracterização e avaliação de germoplasma, diz respeito à sua capacidade para diferenciar genotipicamente os diferentes acessos disponíveis. Uma correta caracterização de acessos contribuirá certamente no descarte de duplicatas em uma coleção, possibilitando conseqüentemente a manutenção de materiais verdadeiramente informativos que possam ser úteis em programas de melhoramento genético.

O uso de marcadores moleculares tem tido cada vez mais destaque como uma ferramenta importante para o melhoramento genético de plantas, visando mapeamento de genes, análise de diversidade genética, diagnósticos de doenças, estudos taxonômicos e evolutivos (Wünsch & Hormaza, 2007). Permitem uma acurada e rápida identificação das variedades, e se tornaram uma ferramenta eficiente para a caracterização de germoplasma de culturas e para o melhoramento (Preczenhak, 2013). Estes podem contribuir para aumentar o conhecimento do material genético disponível (caracterizando e quantificando a diversidade e a divergência genética), facilitar e aprofundar o conhecimento da herança dos

caracteres de interesse (direcionar os procedimentos de melhoramento) e atuar como ferramenta na escolha de genitores de forma a explorar a heterose (Pereira et al. 2005).

Avanços importantes no melhoramento podem ser obtidos através da caracterização, identificação e seleção de genótipos com potencial para o cultivo e melhoramento, visando o aumento do rendimento e da qualidade do feijão-de-vagem. O uso de marcadores moleculares envolvendo as estratégias de análise de agrupamento tem permitido a seleção de genitores de acordo com critérios de similaridade/dissimilaridade, bem como o monitoramento das progênies desses cruzamentos, o que aumenta consideravelmente a eficiência dos programas de melhoramento.

Entre os marcadores moleculares baseados na técnica de Reação de Polimerização em Cadeia (PCR), o método de sequências simples repetidas (ISSR) é amplamente utilizado em estudos de diversidade e variabilidade genética por não necessitar de informação prévia da sequência de DNA. Assim, os procedimentos laboratoriais podem ser transferidos para qualquer espécie de planta (Souza et al., 2005). Além disso, esta técnica pode resultar em elevado grau de polimorfismo, apresentar alta reprodutibilidade e ter baixo custo (Braga, 2013). No entanto, poucos estudos foram conduzidos explorando esta metodologia para estimar diversidade em germoplasma de genótipos de feijão-de-vagem.

Portanto, o presente estudo teve o objetivo de investigar a divergência genética existente na coleção de feijão-de-vagem da UENF, via marcadores moleculares ISSR.

### **3.2.2 REVISÃO**

#### **3.2.2.1 Marcadores Moleculares**

Agarwall et al. (2008) têm definido um marcador molecular como sendo um segmento particular de DNA que pode ser usado para comparar e representar diferenças em nível genômico. Esses marcadores podem ou não ser correlacionados com a expressão fenotípica de uma característica e ainda

apresentam vantagens sobre os marcadores morfológicos porque fornecem um número ilimitado de polimorfismos distribuídos aleatoriamente ao longo de todo o genoma, não sendo afetados pelos efeitos ambientais e de identificação precisa e precoce (Alzate Marin et al., 2005).

Os marcadores moleculares são marcadores genéticos baseados em qualquer alteração na sequência de DNA, podem estar relacionados a um gene expresso ou região genômica específica (Ferreira e Grattapaglia, 1998) e permitem a diferenciação entre dois ou mais indivíduos. Estes identificam regiões específicas do genoma (*locus*) e as variações genéticas devido ao tamanho ou sequência de nucleotídeos que podem existir em um único loco. Estas variações são denominadas de alelos (Griffiths et al., 2006).

Até meados dos anos 60, as características de importância econômica eram obtidas basicamente por marcadores morfológicos respaldados em características fenotípicas. E apesar de serem marcadores bastante influenciados pelo ambiente e apresentarem um número bastante limitado, eles deram e ainda continuam dando uma contribuição enorme aos programas de melhoramento de plantas. Os marcadores de DNA foram inicialmente utilizados no melhoramento de plantas no início da década de 80 (Soller e Beckmann, 1983).

Os marcadores moleculares podem ser baseados em hibridação, por amplificação de segmentos de DNA e por sequenciamento. Os principais podem ser exemplificados pelos RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism*) (Botstein et al., 1980), os minissatélites (VNTR- *Variable Number of Tandem Repeats*) (Jeffreys et al., 1985), os DarT (*diversity array technology*) (Kilian et al., 2005); RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*) (Williams et al., 1990), os AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphism*) (Vos et al., 1995), os SCAR (*Sequence characterized amplified regions*) (Paran e Michelmore, 1993), os ISSR (*Intersimple sequence repeats*) (Zietkiewicz et al., 1994), os SSR (*Simple Sequence Repeats*) (Tautz, 1989) e os SNPs (*Single Nucleotide Polymorphism*) (Chen e Sullivan, 2003).

Os marcadores moleculares têm sido utilizados com sucesso em estudos filogenéticos de sequenciamentos, de mapeamentos e de estimativas de diversidade genética (Agarwall et al., 2008; Oliveira et al., 2010; Galvão et al., 2015; Franzoni et al., 2012; Pena et al., 2015). Esses tipos variados de marcadores moleculares se diferem quanto ao seu potencial para detectar diferenças entre



indivíduos, o seu custo e as instalações necessárias (Schlötterer, 2004; Schulman, 2007; Bernardo, 2008).

### 3.2.2.2 Marcadores ISSR

Desenvolvidos por Zietkiewicz et al.,(1994) e Gupta et al. (1994), os ISSR (*Inter Simple Sequence Repeats*) são fragmentos de DNA de 100 a 3.000 pb amplificados via PCR (*Polymerase Chain Reaction*) usando um único iniciador (16 a 20) construído a partir de sequência de microssatélites. Sua utilização envolve extração de DNA, amplificação via PCR, eletroforese para separação dos fragmentos obtidos e visualização do polimorfismo utilizando coloração.

No decorrer da Reação de Cadeia de Polimerase (PCR) o marcador ISSR gera fragmentos de tamanhos variados, denominados locos, os quais são posteriormente analisados via eletroforese.

Apresenta vantagens como a geração de grande número de bandas informativas por reação, e o fato de não haver necessidade de conhecimento prévio de dados de sequência de DNA para a construção do *primer* utilizado (Faleiro, 2007), logo não diferenciam os indivíduos heterozigotos dos homizigotos dominante, não permitindo atribuir genótipo para os locos. No entanto, tem a vantagem de analisar locos múltiplos em uma única reação (Goulão e Oliveira, 2001).

O comprimento dos *primers* de ISSR (15 a 30 nucleotídeos) permite a utilização de elevadas temperaturas de anelamento, o que reflete em uma maior estabilidade no processo de amplificação e o custo das análises é relativamente baixo em comparação com outros marcadores tais como RFLP, SSR e AFLPs (Wang et al., 2011).

Neste sentido, vários estudos que têm como objetivo analisar a variabilidade genética em populações, vêm utilizando os marcadores moleculares ISSR, pois são eficazes na detecção de polimorfismo, têm baixo custo, são abundantes no genoma e reprodutíveis entre laboratórios (Santana et al., 2011).

Dias et al. (2015), avaliou a variabilidade genética em 38 genótipos de feijão-caupi de porte ereto e ciclo precoce por meio de marcadores RAPD e ISSR, ambos os marcadores foram eficientes para detectar variabilidade genética, formando 18 grupos distintos. Mendes (2014), estimou a variabilidade genética em 60 genótipos

crioulos de feijão-caupi, através de marcadores ISSR, em um conjunto de 13 *primers* selecionados para avaliação gerou 257 locos ISSR, dos quais 247 foram polimórficos. O dendrograma formou três grupos. A partir desse resultado foi possível indicar possíveis cruzamentos promissores para o programa de melhoramento.

### **3.2.2.3 Diversidade genética e o melhoramento de plantas**

Estudos de distância genética são importantes para o conhecimento da variabilidade das populações e possibilitam o monitoramento de bancos de germoplasmas (Sudré et al., 2005; Cruz & Carneiro, 2006), disponíveis para serem utilizados em programas de melhoramento de plantas. Esses estudos auxiliam na identificação de possíveis duplicatas, e fornecem parâmetros para escolha de genitores que, ao serem cruzados, possibilitam maior efeito heterótico na progênie, aumentando assim, as chances de obtenção de genótipos superiores em gerações segregantes (Sudré et al., 2005).

Na avaliação da diversidade genética, destacam-se os marcadores moleculares, pois, quando comparados com outros tipos de marcadores, apresentam maior número de locos polimórficos, o que permite a distinção entre acessos mesmo com morfologia similar. Algumas complicações, como o efeito ambiental, tempo necessário para avaliações, heranças poligênicas, entre outras, podem ser evitadas pelo uso da análise direta do genótipo por meio de marcadores moleculares de DNA.

Entre as aplicações dos marcadores moleculares no melhoramento genético de plantas, pontificamos estudos de diversidade genética, caracterização de acessos de germoplasma e variedades, seleção de genitores, recuperação mais rápida do genoma do genitor recorrente em programas de retrocruzamentos, seleção assistida, análise de identidade genética ou *fingerprinting*, desenvolvimento de mapas genéticos e seleção genômica ampla. Os marcadores têm sido utilizados em várias aplicações, incluindo análises de relações genéticas entre indivíduos, mapeamento de genes úteis, seleção assistida, estudos de genética de populações e análises filogenéticas (Kalia et al., 2011).

Entretanto, é importante mencionar que as avaliações fenotípicas contabilizando os efeitos ambientais e das interações genótipos versus ambiente

continuarão sendo de grande importância e essenciais para subsidiar os programas de melhoramento genético (Faleiro et al., 2011).

Segundo Hallauer et al. (2010), para a obtenção de híbridos superiores, o primeiro passo é a identificação de genótipos divergentes. Na concepção de diversos pesquisadores, esse procedimento pode ser obtido com resultados mais confiáveis quando se utilizam marcadores moleculares, por permitirem uma inequívoca representação das diferenças genômicas das populações (Legesse et al., 2007; Balestre et al., 2008).

Para a utilização adequada dos recursos genéticos de um banco de germoplasma, é fundamental que se conheça a diversidade genética entre os acessos disponíveis. Quanto maior a diversidade genética entre os acessos disponíveis, maior será a probabilidade de se encontrar alelos de interesse. O conhecimento da diversidade genética também permite a escolha do genótipo adequado e dos métodos de seleção a serem utilizados, em função dos recursos disponíveis e da distância genética entre os genótipos a serem recombinados, conforme os objetivos do programa de melhoramento. Por outro lado, o conhecimento desta diversidade genética por meio da dissimilaridade entre os genótipos de interesse, permite maior eficiência na organização do germoplasma coletado e nas amostragens (Nienhuis et al., 1995).

A variabilidade genética presente no germoplasma de feijoeiro é essencial na estratégia de sobrevivência, não apenas dos pequenos agricultores, mas por servir como fonte de genes ou alelos (Rodrigues et al., 2002). Eles poderão ser utilizados em programas de melhoramento na obtenção de cultivares mais produtivas e resistentes ou tolerantes a estresses bióticos e abióticos, devido à adaptação local que esses acessos possuem.

A utilização de técnicas moleculares possibilita acessar a variabilidade diretamente pelo DNA, permitindo a geração de descritores estáveis, que não são influenciados pelo ambiente nem pelo estágio de desenvolvimento da planta são consideradas adequadas e estratégias para fins de determinação de identidade genética. Atualmente, existe uma sinalização positiva para a utilização de marcadores moleculares na caracterização molecular de cultivares, seguindo recomendações da Associação Internacional para Testes de Sementes (ISTA), cujas normas são adotadas pela União Internacional para Proteção de Obtenções Vegetais (UPOV), de acordo com Schuster et al. (2004).

Para a análise genética em feijoeiro comum, sistemas de genotipagem automatizados foram desenvolvidos por Masi et al. (2003), no qual 30 microssatélites combinados em sete multiplex mostraram-se eficientes para detectar polimorfismo entre três variedades tradicionais de feijoeiro comum.

### **3.2.3 MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.2.3.1 Material genético**

Foram utilizados 33 genótipos de feijão-de-vagem na geração F<sub>9-10</sub> sendo três testemunhas e 30 linhagens são oriundas da coleção do Programa de Melhoramento de feijão-de-vagem da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF) (Tabela 1).

As sementes foram semeadas em casa de vegetação na UAP (Unidade de Apoio à Pesquisa), na Universidade Estadual do Norte Fluminense, no Município de Campos dos Goytacazes, RJ, Brasil.

A semeadura foi realizada manualmente utilizando três sementes por vaso, e o desbaste foi feito aos dez dias após a semeadura deixando uma planta por vaso. Os vasos foram organizados em fileiras, e nas extremidades de cada fileira foi posta uma estaca de cada lado ligadas por arame liso zincado, a fim de auxiliar no tutoramento que foi feito com barbante.

As plantas foram cultivadas em vasos com capacidade para 5L, utilizando substrato orgânico composto por casca de pinus, turfa, carvão e vermiculita, devidamente adubado com NPK.

Folhas jovens foram coletadas, identificadas, acondicionadas em papel alumínio e armazenadas no freezer a -20°C, para serem usadas na extração de DNA.

**Tabela 1.** Genótipos pertencentes a coleção de Programa de Melhoramento de feijão-de-vagem, com seus respectivos progenitores. Campos dos Goytacazes-RJ, 2017.

Número dos genótipos	Genótipos selecionados <sup>1</sup>	Progenitores
1	<b>Progenitor 19 (UENF 1445)</b>	-
2	<b>Feltrin</b>	-
3	<b><i>Top Seed Blue Line</i></b>	-
4	UENF 7-3-3	UENF 1442 x UENF 1429
5	UENF 7-4-4	UENF 1442 x UENF 1429
6	UENF 7-5-5	UENF 1442 x UENF 1429
7	UENF 7-6-6	UENF 1442 x UENF 1429
8	UENF 7-7-7	UENF 1442 x UENF 1429
9	UENF 7-9-9	UENF 1442 x UENF 1429
10	UENF 7-10-10	UENF 1442 x UENF 1429
11	UENF 7-12-42	UENF 1442 x UENF 1429
12	UENF 7-14-44	UENF 1442 x UENF 1429
13	UENF 7-20-50	UENF 1442 x UENF 1429
14	UENF 7-28-88	UENF 1442 x UENF 1429
15	UENF 9-1-11	UENF 1448 x UENF 1429
16	UENF 9-3-13	UENF 1448 x UENF 1429

**Tabela 1. Cont.s**

Número dos genótipos	Genótipos selecionados <sup>1</sup>	Progenitores
17	UENF 9-4-14	UENF 1448 x UENF 1429
18	UENF 9-3-23	UENF 1448 x UENF 1429
19	UENF 9-24-94	UENF 1448 x UENF 1429
20	UENF 9-27-97	UENF 1448 x UENF 1429
21	UENF 14-4-24	UENF 1448 x UENF 1442
22	UENF 14-6-26	UENF 1448 x UENF 1442
23	UENF 14-11-61	UENF 1448 x UENF 1442
24	UENF 14-16-66	UENF 1442 x UENF 1429
25	UENF 14-22-102	UENF 1448 x UENF 1442
26	UENF 14-23-103	UENF 1448 x UENF 1442
27	UENF 15-6-36	UENF 1448 x UENF 1445
28	UENF 15-7-37	UENF 1448 x UENF 1445
29	UENF 15-8-38	UENF 1448 x UENF 1445
30	UENF 15-22-112	UENF 1448 x UENF 1445
31	UENF 15-23-113	UENF 1448 x UENF 1445
32	UENF 15-25-115	UENF 1448 x UENF 1445
33	UENF 15-26-116	UENF 1448 x UENF 1445

<sup>1</sup>Primeiro número = População; Segundo número = Família; Terceiro número = linha.

### 3.2.3.2 Extração de DNA

A extração, a quantificação do DNA e a genotipagem dos indivíduos foram feitas no Setor de Marcadores de DNA, no Laboratório de Melhoramento Genético Vegetal (LMGV) da UENF. A extração de DNA foi realizada a partir de folhas jovens de 33 genótipos de feijão-de-vagem, utilizando o Kit *DNeasy Plant* Mini Kit da QIAGEN, seguindo a metodologia descrita pelo seu fabricante. Em seguida, o DNA foi quantificado no aparelho espectrofotômetro NanoDrop® 2000c (*Thermo Scientific*®) para mensurar a concentração de DNA com leitura das absorbâncias no comprimento de onda de 260nm.

Posteriormente, as amostras de DNA foram diluídas para a concentração de trabalho de 5 ng.µL<sup>-1</sup> e mantidas no freezer a -20°C para serem usadas nas reações de amplificação (PCR).

### 3.2.3.3 PCR - Reação em cadeia da polimerase

Foram utilizados na análise 25 iniciadores ISSR (Tabela 2), selecionados da coleção de marcadores do laboratório de melhoramento genético vegetal da UENF, os quais foram aplicados em amostras de DNA de três genótipos escolhidos aleatoriamente com a finalidade de selecionar primers que amplificassem o maior número de marcadores polimórficos e de boa qualidade para leitura.

**Tabela 2.** Marcadores ISSR utilizados na amplificação de genótipos de feijão-de-vagem, com suas respectivas sequências.

<i>Primers (5'-3')</i>	<i>Sequência do primer (5'-3')</i>
2	GTGTGTGTGTGTCC
3	CACCACCACGC
9	TGTGTGTGTGTGTGGG
17	ACACACACACACACT
19	AGAGAGAGAGAGAGGYA
26	GACAGACAGACAGACA
40	ACACACACACACACCTT
42	TCTCTCTCTCTCTCAGA
46	AGAGAGAGAGAGAGGCTA
48	GAGAGAGAGAGAGAGAT
50	ACACACACACACACACC
51	ATCATCATCATCATC
61	ACACACACACACACACYA
70	GAGAGAGAGAGAGARC
71	AGAGAGAGAGAGAGGC
79	GAAGAAGAAGAAGAAGAA

Para identificação da temperatura de amplificação ideal, foi feito um gradiente de temperatura para todos os iniciadores selecionados. Estas temperaturas variaram entre 48°C e 52°C, de acordo com cada iniciador. As amplificações foram feitas utilizando um termociclador *Applied Biosystems/Veriti 96 well*.

As amostras foram distribuídas em placas específicas contendo 96 poços. As PCR foram conduzidas em um volume final de 13 µL contendo: 0,12 µL de enzima Taq polimerase (5 U/µL), 1,3 µL de tampão 10X (NH<sub>4</sub>SO<sub>4</sub>), 0,9 µL MgCl<sub>2</sub> (25 mM), 1,3 µL DNTP (2 mM), 6,38 µL de água ultra-pura, 1 µL de primer e 2 µL de DNA (5 ng/µL).

O programa consistiu de uma desnaturação inicial a 94°C por 4 min, seguido por 40 ciclos de desnaturação a 94°C por 1 min, anelamento do *primer* a 48-52°C (dependendo do *primer*) por 1 minuto e extensão a 72°C por 3 min, seguido de extensão final por 7 min a 72°C.

Após a identificação da temperatura ideal para amplificação dos *primers*, todos os genótipos foram submetidos a PCR, utilizando o mesmo programa descrito acima.

#### **3.2.3.4 Eletroforese em gel**

Os produtos da amplificação foram separados por eletroforese em gel de agarose a 2%, imerso em tampão TAE 1X (Tris, Acetato de Sódio, EDTA, pH 8,0), corado com Gel *RedTM* e *Blue Juice* (1:1). Os géis foram visualizados sob luz UV e fotografados pelo sistema de fotodocumentador *MiniBis Pro (Bio-Imaging Systems)*, e comparado com o marcador de peso molecular 100 pb, KASVI K9 - 100L, durante as corridas para determinar os fragmentos amplificados. A eletroforese teve duração de três horas a 100 V.

#### **3.2.3.5 Análise de dados**

Os locos amplificados ao acaso, foram codificadas como caracteres binários, 0 e 1, correspondendo a ausência e presença de bandas, respectivamente. Foi



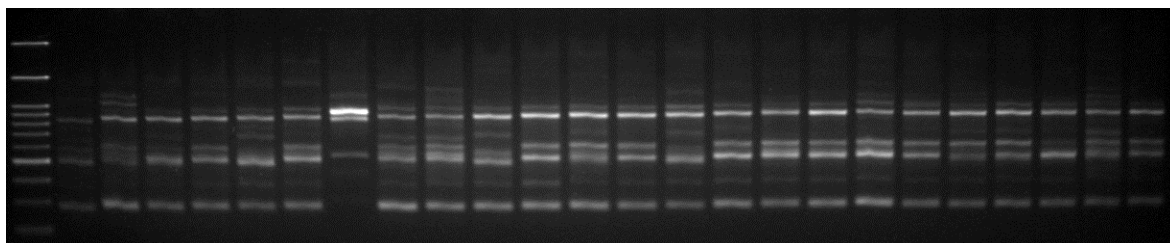
construída uma planilha de dados com informações de 16 marcadores ISSR selecionados para os 33 genótipos de feijão-de-vagem.

Posteriormente, esses dados foram utilizados para construção de uma matriz de dissimilaridade genética, utilizando o complemento aritmético do coeficiente de Jaccard, por meio do programa computacional GENES (Cruz, 2013). A partir da matriz foi construído um dendrograma por meio da análise de agrupamento, utilizando o método hierárquico UPGMA (*Unweighted Pair-Group Method Using na Arithmetic Average*), com o programa Mega 7.0 (Kumar et al. 2016).

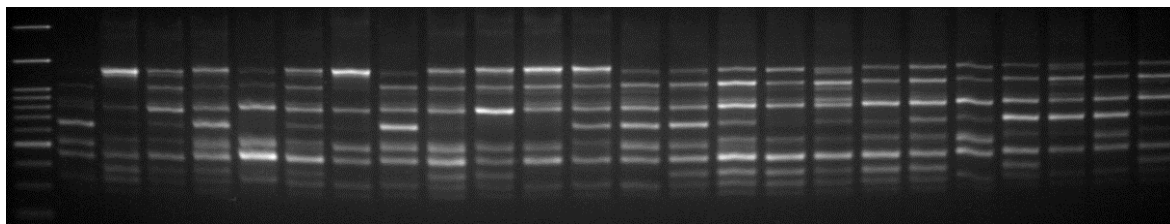
Para verificação de ajuste entre a matriz de dissimilaridade e o dendrograma, foi calculado o coeficiente de correlação cofenética ( $r$ ). O índice de Shannon foi obtido através do programa POPGENE (Rohlf, 2005).

### 3.2.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dos 25 iniciadores ISSR testados na triagem inicial, 16 foram selecionados com base no polimorfismo apresentado e na intensidade dos fragmentos de DNA amplificado. Foram selecionados somente aqueles que apresentaram um padrão de amplificação com bandas nítidas e bem definidas e que possuíam um número considerável de locos, além de uma boa resolução dos fragmentos. Como exemplo, destaca-se a amplificação dos genótipos de feijão-de-vagem com o *primer* 26 (Figura 1) e o *primer* 46 (Figura 2).



**Figura 1.** Resultado da eletroforese em gel de agarose 2%, apresentando o padrão de amplificação dos genótipos de feijão-de-vagem com o *primer* 26.



**Figura 2.** Resultado da eletroforese em gel de agarose 2%, apresentando o padrão de amplificação dos genótipos de feijão-de-vagem com o *primer* 46.

Conforme a Tabela 3, foi amplificado um total de 80 locos, dos quais 48 foram polimórficos e 32 monomórficos. O número de locos amplificados por *primer* variou de três a dez, com média de cinco locos por *primer*. O número de locos amplificados polimórficos por *primer* variou de um a nove, com média de três locos polimórficos por *primer*. Os dezesseis *primers* de ISSR selecionados revelaram um percentual de 59,53% de polimorfismo, nos 33 genótipos de feijão-de-vagem, sendo que o *primer* 70, revelou 90% de polimorfismo, enquanto que o *primer* 3 e 71, revelaram o menor percentual (25%).

Santana et al. (2011), trabalhando com *Spondias* sp., selecionaram 25 *primers*, os quais geraram 249 locos, com média de 10 locos por *primer*. Já Gonçalves et al. (2014) também selecionaram, em estudos envolvendo *Erythrina velutina*, 11 *primers*, os quais geraram 149 locos. Ambos os estudos anteriores envolveram a diversidade genética de mais de uma população, o que gera a necessidade de um número mais elevado de locos para quantificar a diferenciação genética entre áreas geográficas.

Como o presente estudo envolve apenas uma população, o número de locos gerados foi considerado suficiente para discriminar os genótipos e quantificar a diversidade genética do local. Além disto, outros estudos têm revelado que é possível discriminar genótipos e populações com um número de locos variando entre 47 locos (Denduangboripant et al., 2010) e 70 locos (Brandão et al., 2011), sendo este último similar ao número de locos do presente estudo.

De acordo com Esselman et al. (1999), os marcadores ISSR possuem a vantagem de gerar grande quantidade de bandas, sendo abundante ao longo do genoma de eucariontes. São bastante úteis na avaliação de populações em estudos genéticos, na detecção da diversidade genética e em estudos de mapeamento genético. Os marcadores ISSR oferecem um método rápido e

confiável para a geração de dados genéticos referente a populações (Chen et al., 2014). Apesar da base genética estreita, os marcadores moleculares ISSRs detectaram polimorfismo e se mostraram reproduzíveis para *Phaseolus vulgaris*, dessa forma, é um método eficiente para a detecção da variabilidade genética entre os seus genótipos.

Dias et al. (2015) utilizaram marcadores ISSR em feijão-caupi, verificaram que a partir de nove iniciadores, obtiveram 62 locos, dos quais 47 foram polimórficos e 13 monomórficos. No estudo realizado por Kahraman et al. (2009), para análise genética de feijão-comum, utilizaram 10 *primers* ISSR e obtiveram 85 locos amplificados, dos quais 71 foram polimórficos e 14 monomórficos, ambos apresentaram as proporções de polimorfismo mais alta do que no presente trabalho. Alguns trabalhos de feijão, realizados com populações obtidas a partir de linhagens elites derivadas de programas de melhoramento, têm mostrado polimorfismo ainda menor (Faleiro et al., 2003; Teixeira et al., 2005; Blair et al., 2006; Pereira et al., 2007, 2008; Torga et al., 2010).

Brandão (2011) estudou a diversidade genética de *Myrcia splendens*, também por meio de marcadores ISSR, foram obtidos 70 locos com a utilização de 10 *primers*, com percentual de locos polimórficos de 73%. No estudo realizado por Jena et al. (2015), para a análise de diversidade genética de *Merope angulata*, sete *primers* UBC foram pré-selecionados gerando uma média de 6,2 bandas polimórficas por *primer*. De acordo com Junior (2010), a variação expressiva nos percentuais de polimorfismo obtidos com marcadores ISSR em diferentes estudos encontrados na literatura pode ser atribuída às características ecológicas de cada espécie, amostragem dos indivíduos e populações que variam a cada trabalho.

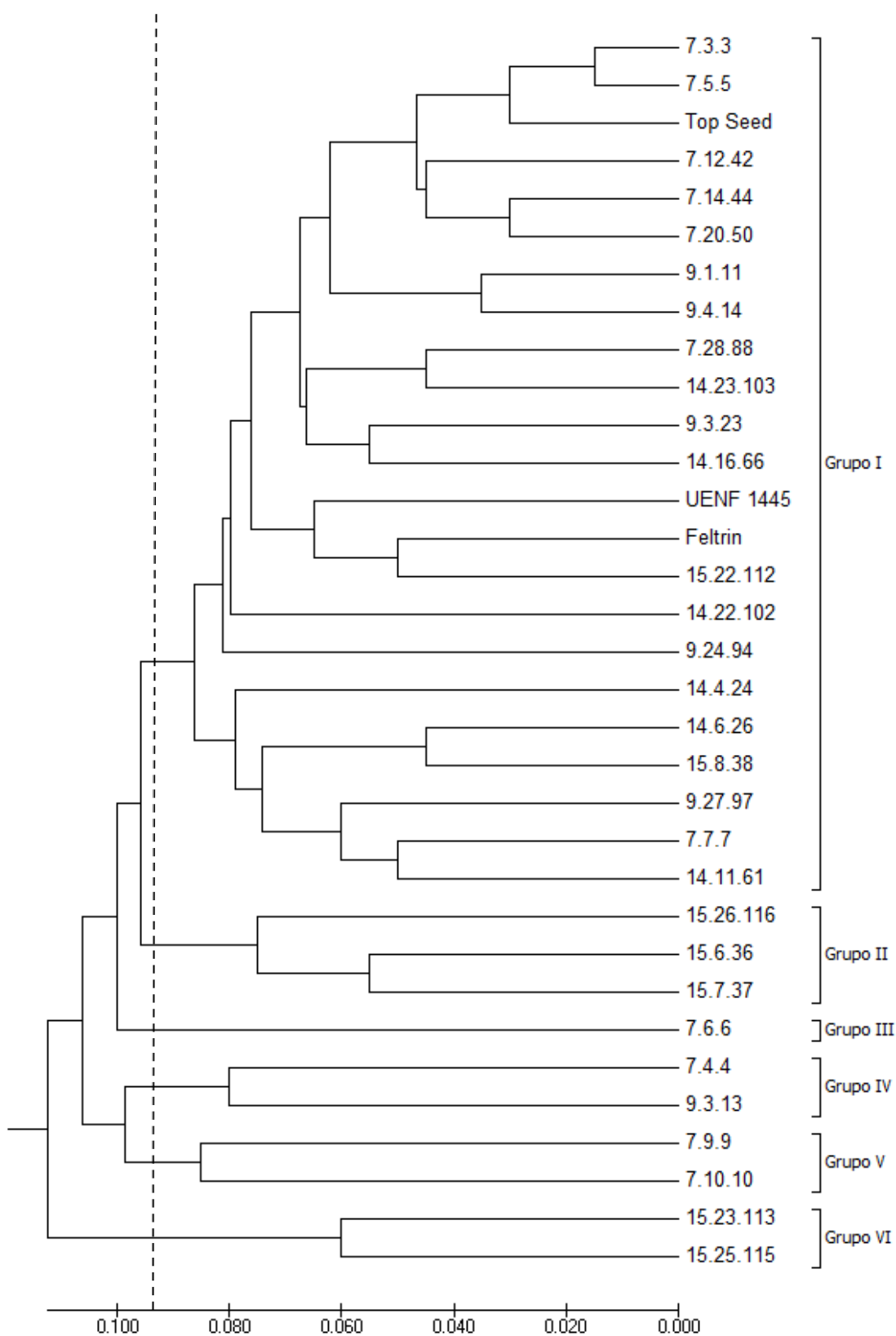
De acordo com Pádua (2011) o valor do índice de Shannon pode variar entre 0 e 1, sendo 1 o ápice de diversidade de uma população. Dessa forma, a população em estudo apresenta nível médio de diversidade genética, variando de 0,34 a 0,68, com média de 0,50. No estudo realizado por Brandão (2011) na análise de diversidade genética de *M. splendens*, o valor Índice de Shannon variou 0,44 a 0,53. Diferentemente do estudo realizado por Ferreira (2011) na análise da diversidade genética de *Annona crassiflora*, com implicações para a conservação, utilizando marcadores ISSR os valores obtidos foram baixos quanto a diversidade genética (0,19 e 0,24).

A utilização do Índice de Shannon como medida de diversidade populacional é bastante interessante, especialmente quando se trabalha com dados de marcadores dominantes, pois seu uso possibilita contornar o problema da não detecção dos genótipos heterozigotos, já que este índice não se baseia na heteroziguidade da população e sim na frequência fenotípica da banda na população (Moura, 2003).

**Tabela 3.** Marcadores ISSR utilizados na amplificação de genótipos de feijão-de-vagem, com suas respectivas temperaturas de anelamento (Ta(C°)), número total de locos amplificados (NLA), número de locos polimórficos (NLP), percentagem de polimorfismo (%P), Índice de Shannon (I).

Código	Ta(°C)	NLA	NLP	%P	I
2	52,0	08	07	87,5	0,50
3	52,0	04	01	25,0	0,68
9	52,0	05	02	40,0	0,57
17	50,0	05	03	60,0	0,56
19	50,0	08	07	87,5	0,55
26	50,0	05	03	60,0	0,56
40	50,0	04	03	75,0	0,51
42	50,0	03	03	100,0	0,53
46	50,0	08	03	37,5	0,63
48	48,0	04	02	50,0	0,35
50	52,0	05	02	40,0	0,41
51	52,0	04	03	75,0	0,43
61	52,0	04	02	50,0	0,41
70	50,0	10	09	90,0	0,34
71	48,0	04	01	25,0	0,56
79	48,0	04	02	50,0	0,45
Total		80	48		
Média		05	03	59,53	0,50

A análise realizada pelo método hierárquico UPGMA (Figura 3) possibilitou a formação de seis grupos distintos, considerando o ponto de corte onde constatou-se a mudança abrupta de nível quanto a formação de grupos. A partir da análise dos locos ISSR acessados neste estudo foi possível constatar baixa distância genética entre os genótipos de feijão-de-vagem analisados, com valores variando de 0,03 a 0,30. A maior distância genética foi observada entres os genótipos (7) UENF 7.6.6 e UENF 15.25.115, com distância de 0,30, representantes dos grupos III e VI, respectivamente. Por outro lado, os genótipos mais próximos foram (4) UENF 7.3.3 e (6) UENF 7.5.5, com distância de 0,03, representantes do grupo I.



**Figura 3.** Dendrograma da dissimilaridade genética de 33 genótipos de feijão-de-vagem, obtido pelo método UPGMA, utilizando-se a distância do complemento aritmético do índice de Jaccard (considerando coeficiente de correção cofenética de 0,59).

Para Gupta et al. (2014) a identificação de genótipos superiores com base na divergência genética é a estratégia mais adequada para iniciar um programa de melhoramento. Sendo importante ressaltar que é mais efetivo realizar cruzamentos entre genótipos altamente divergentes, no entanto com um bom potencial produtivo.

A variabilidade genética é de suma importância para a manutenção da diversidade das espécies e conseqüentemente para propiciar sua sobrevivência diante das adversidades ambientais. A variabilidade genética de uma população segregante depende da divergência genética e dos genótipos parentais envolvidos no cruzamento (Falconer, 1987). Entretanto, se o objetivo do programa é aumentar a produtividade, devem-se escolher para cruzamentos, cultivares de boa performance *per se*, que apresentem maior distância genética ou que complementem alguma característica de um dos genitores. No entanto, apesar de ser muito enfatizada a importância da divergência genética na escolha de genitores em programas de melhoramento por hibridação, ainda é discutido a relação entre a divergência de progenitores e o potencial produtivo em seus híbridos.

Neste estudo, não foram identificados indivíduos idênticos, porém existe pouca variabilidade entre os genótipos. No entanto, é possível indicar alguns cruzamentos baseados nos valores de distância genética dos genótipos analisados neste estudo, visando o desenvolvimento de populações segregantes com maior variabilidade genética, contribuindo para o aumento do ganho genético. Nesse sentido, os cruzamentos propostos são: (7) UENF 7.6.6 x (32) UENF 15.25.115, (1) UENF 1445 x (10) UENF 7.10.10, (32) UENF 15.25.115 x (9) UENF 7.9.9, (22) UENF 14.6.26 x (9) UENF 7.9.9, (32) UENF 15.25.115 x (20) UENF 9.27.97 e (10) UENF 7.10.10 x (21) UENF 1.4.24.

No capítulo 1, foram identificadas as linhagens superiores 22 (UENF 14-6-26), 31 (UENF 15-23-113), 1 (UENF 1445), 4 (UENF 7-3-3) e 21 (UENF 14-4-24), como as melhores linhagens baseadas na seleção combinada para cinco variáveis, que são: produtividade de vagens, produtividade de grãos, número de vagens por planta, número de sementes por vagem e peso de 100 sementes. Nota-se neste capítulo sobre diversidade genética, que as linhagens 1, 21 e 22, representantes do grupo I, foram indicadas como possíveis bons genitores para cruzamentos no programa de melhoramento de feijão-de-vagem. A distância genética da linhagem 4 em relação as demais, variou de 0,03 a 0,21 e da linhagem 31 variou de 0,17 a 0,26, ambos possuem boas características agronômicas, porém não foram

indicados como possíveis cruzamentos, porque a distância mínima considerada para indicação dos mesmos foi de 0,27.

A linhagem 32 destacou-se em três cruzamentos: (7) UENF 7.6.6 x (32) UENF 15.25.115, (32) UENF 15.25.115 x (9) UENF 7.9.9, (32) UENF 15.25.115 x (20) UENF 9.27.97, com distância genética que variou de 0,27 a 0,30, porém não foi avaliada no capítulo anterior e por isso não podemos afirmar que constituirão bons genitores.

A demanda da cultura do feijão-de-vagem tem sido cada vez maior, porém, nota-se uma carência de pesquisa em relação a germoplasma. Tais estudos são fundamentais para a utilização da variabilidade genética em programas de melhoramento e para subsidiar uma futura estratégia relação de intercâmbio de germoplasma nacional e internacional. Segundo Casali (1969), a vulnerabilidade resultante do estreitamento da base genética só pode ser evitada com variabilidade, a qual depende dos recursos genéticos disponíveis, ou seja, do germoplasma da espécie.

Expandir a variabilidade genética existentes nas coleções, caracterizar, avaliar o germoplasma e utilizá-los em programa de melhoramento são prioridades da pesquisa relacionada a recursos genéticos de feijão-de-vagem. Portanto, para que o programa de melhoramento de feijão-de-vagem seja bem-sucedido é necessário a inserção de novos materiais, coletados em novas regiões, na busca de melhores ganhos genéticos.

### 3.2.5 CONCLUSÕES

- 1 – Apesar da base genética estreita, os marcadores ISSR detectaram polimorfismo entre os genótipos de feijão-de-vagem;
- 2 – Há baixa variabilidade na coleção de trabalho, no entanto, baseado na distância genética existente entre os genótipos foram propostos os seguintes cruzamentos: (7) UENF 7.6.6 x (32) UENF 15.25.115, (1) UENF 1445 x (10) UENF 7.10.10, (32) UENF 15.25.115 x (9) UENF 7.9.9, (22) UENF 14.6.26 x (9) UENF 7.9.9, (32) UENF 15.25.115 x (20) UENF 9.27.97 e (10) UENF 7.10.10 x (21) UENF 1.4.24, visando o desenvolvimento de populações segregantes com possibilidade de identificar genótipos agronomicamente superiores;
- 3 – Para o futuro do programa de melhoramento de feijão-de-vagem da UENF, é necessário a inserção de novos genótipos na coleção de trabalho para expandir a variabilidade genética e maximizar os ganhos genéticos.



## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abcsem - Associação Brasileira do Comércio de Sementes e Mudas. 2011. Projeto para levantamento dos dados socioeconômicos da cadeia produtiva de hortaliças no Brasil, 2010/2011. Disponível em: [http://www.agricultura.gov.br/arq\\_editor/file/camaras\\_setoriais/Hortalicas/Dados\\_Economicos/ABCSEM%202011.pdf](http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/camaras_setoriais/Hortalicas/Dados_Economicos/ABCSEM%202011.pdf).
- Abcsem - Associação Brasileira do Comércio de Sementes e Mudas. 2015. Projeto para levantamento dos dados socioeconômicos da cadeia produtiva de hortaliças no Brasil, 2014/2015.
- Abreu, A. de F.B., Ramalho, M.A.P., Gonçalves, F.M.A., Mendonça, H.A. de.(2003) Utilização da produtividade de grãos na seleção para resistência ao *Colletotrichum lindemuthianum* no feijoeiro. *Ciência e Agrotecnologia*, v.27, p.363-369.
- Abreu, F.B., Leal, N.R., Rodrigues, R., Amaral Júnior, A.T., Silva, D.J.H. (2004) Divergência genética entre acessos de feijão-de-vagem (*Phaseolus vulgaris* L.) de hábito de crescimento indeterminado. *Horticultura Brasileira*, 22(3): 547-552.
- Afonso, S.M.E. (2010) Caracterização físico-química e atividade antioxidante de novas variedade de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). 2010. 44 p. Dissertação

(Mestrado em Qualidade e Segurança Alimentar) – Escola Superior Agrária de Bragança, Bragança.

Agarwall, M., Shrivastava, N., Padh, H. (2008) Advances in molecular marker techniques and their applications in plant sciences. *Plant Cell Reports*, 27:617631.

Alzate-Marin, A.L., Cervigni, G.D.L., Moreira, M., Barros, E.G. (2005) Seleção assistida por marcadores moleculares visando ao desenvolvimento de plantas resistentes a doenças, com ênfase em feijoeiro e soja. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v. 30, n. 4, p. 333-342.

Assunção, M.P. et al. (2015) Seleção individual de plantas de maracujazeiro azedo quanto à qualidade de frutos via reml/blup. *Revista Caatinga*, Mossoró. V. 28, n.2, p.57-63.

Balestre, M., Von Pinho, R.G., Souza, J.C., Lima, J.L. (2008). Comparison of maize similarity and dissimilarity genetic coefficients based on microsatellite markers. *Genetics and Molecular Research*, 7: 695-705.

Bárbaro, I.M., et al. (2007) Variabilidade e correlações entre produtividade de grãos e caracteres agronômicos de soja com aptidão para cultivo em áreas de reforma de canavial. *Científica*, Jaboticabal, v. 3 n. 2, p. 136-145.

Barbé, T.C. (2008) *Estimativas de divergência genética entre linhas de feijão-de-vagem (Phaseolus vulgaris L.) por meio de análise multivariada e associação com a genealogia*. Dissertação (mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Campos dos Goytacazes – RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense – UENF, 95.

Barbosa M.H.P.; Pinto, C.A.B.P. (1998) Eficiência de índices de seleção na identificação de clones superiores de batata. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 33:149-156.

- Barbosa, F.; Gonzaga, A. (2012) Informações técnicas para o cultivo do feijoeiro-comum na Região Central Brasileira. Embrapa Arroz e Feijão. Santo Antônio de Goiás, Brasil.
- Barros, F.R. et al. (2011) Potencial genético de progênies de feijão-caupi segregantes quanto ao tipo da inflorescência. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.46, p. 182-189.
- Berilli, A.P.C.G., Pereira, M.G., Tindade, R.S., da Costa F.R. (2013) Response to the selection in the 11th cycle of reciprocal recurrent selection among full-sib families of maize. *Acta Scientiarum. Agronomy*, 35(4):435-441.
- Bertoldo, J.G. et al. (2009) Rendimento de grãos em feijão preto: o componente que mais interfere no valor fenotípico é o ambiente. *Ciência Rural*, v.39, p.1974-1982.
- Bernardo, R. (2002) Breeding for quantitative traits in plants. Minnessota: Stema. 369p.
- Bernardo, R. (2008) Molecular markers and selection for complex traits in plants: learning from the last 20 years. *Crop Science*, v.48, p.1649-1664.
- Bitocchi, E. et al. (2012) Mesoamerican origin of the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) is revealed by sequence data. *PNAS*, Washington, v.109, n.14, p.788-796.
- Blanco, M,C,S,G,, Groppo, G,A,, Tessarioli Neto, J. (1997) Feijão-vagem (*Phaseolus vulgaris* L.) *Manual Técnico das Culturas*, Campinas, n, 8, 2ª Ed., p, 63-65.
- Blair, M.W., Giraldo, M.C., Buendía, H.F., Tovar, E., Duque, M.C., Beebe, S.E. (2006) Microsatellite marker diversity in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, v.113, p.100-109.

- Borrvalho, N.M.G., Reid, J.B., Cromer, R.N., Tibbits, W.N., Raymond, C.A. (1995) Eucalypt plantations: improving fiber yield and quality. Hobart: CRC: IUFRO, 1995. p. 230-232.
- Borges, V., Soares, A.A., Reis, M.S., Resende, M.D.V, Cornélio, V.M.O., Leite, N.A., Vieira, A.R. (2010) Desempenho genotípico de linhagens de arroz de terras altas utilizando metodologia de modelos mistos. *Bragantia*, v.69, p.833-841.
- Borges, V. et al. (2010) Seleção de clones de batata-doce pelo procedimento de REML/BLUP. *Acta Scientiarum. Agronomy*, v. 25, p.643-649.
- Borém, A.; Miranda, G.V. (2009) Melhoramento de Plantas. 5. ed. Viçosa: Editora UFV. 529p.
- Botstein, D. et al. (1980) Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphism. *American Journal of Human Genetics*, v.32, p.314-331.
- Braga, I. (2013) *Discriminação varietal de cultivares em Urochloa brizantha por marcador molecular ISSR*. 52 f. Dissertação (Mestrado de Agronomia) – Universidade do Oeste Paulista, Presidente Prudente.
- Brandão, M.M., Vieira, F.A., Carvalho, D. (2011) Estrutura genética em microescala espacial de *Myrcia splendens* (Myrtaceae). *Revista Árvore*, v. 35, n. 5, p.957-964.
- Canal Rural (2016), [www.canalrural.com.br](http://www.canalrural.com.br)
- Carvalho, J., Saad, J., Cunha, F., Silva, N., Teixeira, M. (2014) Manejo da irrigação no feijoeiro, cultivado em semeadura direta e convencional. *Revista Brasileira de Agricultura Irrigada* 8: 52-63.

- Castiglioni, V.B.R., Takahashi, L.S.A., Athanázio, J.C., Menezes, J.R., Fonseca, M.A.R., Castilho, S.R. (1993) “UEL 1” Nova cultivar de feijão-de-vagem com hábito de crescimento determinado. *Horticultura Brasileira* 11:164.
- Ceasa - Centrais de Abastecimento do Estado do Rio de Janeiro, (2010), [www.ceasa,rj,gov,br/ceasa/consultas/consultas,htm](http://www.ceasa.rj.gov.br/ceasa/consultas/consultas.htm) - Acesso em ago, 2010.
- Ceasa (2015) Prohort – Programa Brasileiro de Modernização do Mercado de Hortigranjeito. <http://www.ceasa.gov.br/precos.php>. Página mantida pelo CEASA.
- Ceasa - Centrais de Abastecimento do Estado do Rio de Janeiro (2016) [www.ceasaminas.com.br/ceasa/consultas/consultas,htm](http://www.ceasaminas.com.br/ceasa/consultas/consultas.htm)
- Ceasa – Centrais de Abastecimento d Estado do Rio de Janeiro (2017) [www,ceasa,rj,gov,br/consultas/preçosmaiscomumnosestados](http://www.ceasa,rj,gov,br/consultas/preçosmaiscomumnosestados)
- Castellane, P, D,; Vieira, R, F,; Carvalho, N, M, (1988), Feijão-de-vagem (*Phaseolus vulgaris L.*): cultivo e produção de sementes, Jaboticabal: FUNEP/FCAV-UNESP, 60 p.
- Chen, X., Sullivan, P.F. (2003) Single nucleotide polymorphism genotyping: biochemistry, protocol, cost and throughput. *The Pharmacogenomics Journal*, 3:77-96.
- Chen L, Chen F, He S, Ma L. (2014). High genetic diversity and small genetic variation among populations of *Magnólia wufegensis* (Magnoliaceae), revealed by ISSR and SRAP markers. *Electronic Journal of Biotechnology*. 17:268-274.
- Chiorato, A.F., Carbonell, S.A.M., Dias, L.A. dos S., Resende, M.D.V. (2008) Prediction of genotypic values and estimation of genetic parameters in common bean. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, v.51, p.465-472.

- Coimbra, J.L.M.; Kopp, M.M.; Souza, V.Q. de; Benin, G.; Marchioro, V.S.; Carvalho, F.I.F. de; Oliveira, A.C. de. (2005) Prediction of genetic value in F3 populations of *Avena sativa* L. using REML/BLUP. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, v.5, p.265-271.
- Costa, M.M. et al. (2004) Ganho genético por diferentes critérios de seleção em populações segregantes de soja. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 39:1095-1102.
- Cronquist, A. (1988) Evolution and classification of flowering plants, New York: Botanical Garden, 555 p.
- Cruz, C.D., Carneiro, P.C.S. (2003) Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético. Viçosa, MG: UFV, v.2. 585p.
- Cruz, C.D. et al. (2004) Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético. 3 ed. Viçosa: UFV, v.1, 480p.
- Cruz, C.D., Regazzi, A.J. (2004) Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético. Viçosa: UFV, 480p.
- Cruz, C.D., Regazzi, A.J., Carneiro, P.C.S. (2012) Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético. 4 ed. Viçosa: Editora UFV. 514p.
- Cruz, C.D., Carneiro, P.C.S. (2006) Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético. Viçosa, MG: UFV, v.2, 285p.
- Cruz, C.D. (2013) GENES – A software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. *Acta Scientiarum*, v. 35, n. 3, p.271-276.
- Denduangboripant, J., Setaphan, S., Suwanprasart, W., Panha, S. (2010) Determination of local tobacco cultivars using ISSR molecular marker. *Chiang Mai Journal of Science*, v. 37, n. 2, p.293-303.

- Dias, F.T.C., Bertini, C.H.C.M., Silva, A.P.M., Cavalcanti, J.J.V. (2015) Variabilidade genética de feijão-caupi de porte ereto e ciclo precoce analisada por marcadores RAPD e ISSR. *Revista Ciência Agronômica*, v.46, n.3. p. 563-572.
- Dourado, D., Fancelli, A. (2000) Produção de feijão. Editora Agropecuária. Rio Grande do Sul, Brasil.
- Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Embrapa. Centro Nacional de Pesquisa de Hortalças. Pós Colheita: Feijão-de-vagem. Disponível em: [http://www.cnph.embrapa.br/laborato/pos\\_colheita/feijao.htm](http://www.cnph.embrapa.br/laborato/pos_colheita/feijao.htm). Acesso em 08 mar. 2010b.
- Esselman, E. J. et al. (1999) Clonal diversity in the rare *Calamagrotis porter* ssp. *Insuperata* (Poaceae): comparative results for allozymes and random amplified polymorphic DNA (RAPD) and inter simple sequence repeat (ISSR) markers. *Molecular Ecology*, v. 8, p. 443-451.
- Falconer, D.S. (1987) Introdução à genética quantitativa. Viçosa: UFV. 279p.
- Faleiro, F.G., Schuster, I., Ragagnin, V.A., Cruz, C.D., Corrêa, R.X., Moreira, M.A., Barros, E.G. de. (2003). Caracterização de linhagens endogâmicas recombinantes e mapeamento de locos de características quantitativas associados a ciclo e produtividade do feijoeiro comum. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.38, p.1387-1397.
- Faleiro, G.F. (2007) Marcadores genético-moleculares: aplicados a programas de conservação e uso de recursos genéticos. Brasília: Embrapa Cenargen. 102 p.
- Faleiro, F. G., Andrade, S. R. M., Reis Junior, F. B. (2011) Biotecnologia: estado da arte e aplicações na agropecuária. In: Aplicações de marcadores moleculares como ferramenta auxiliar em programas de conservação, caracterização e uso de germoplasma e melhoramento genético vegetal. Planaltina: DF, 1º Ed. P.55-118.

FAO (2010) [http://www.fao.org/index\\_en.htm](http://www.fao.org/index_en.htm). Página mantida pela FAO.

Fancelli, A., Dourado, D. (1997) Ecofisiologia e fenologia do feijoeiro. In: Fancelli, A. L; Dourado Neto, D. (Coord.) Tecnologia da produção do feijão irrigado. ESALQ. Piracicaba, Brasil.

Farias, F.J.C. (2005) *Índice de seleção de cultivares de algodoeiro herbáceo*. Tese (Doutorado em genética e melhoramento de plantas) – Piracicaba – SP, Escola Superior de Agricultura Luiz de Querioz – USP, 121p.

Ferreira, M.E., Grattapaglia, D. (1998) Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética. Brasília: Embrapa Cenargen. 220 p.

Ferreira, M.F.M. (2011) *Análises genéticas de Annona crassiflora (Annonaceae): implicações para conservação da espécie*. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) - Universidade Federal de Lavras. Lavras.

Ferreira, P.P.A., Miotto, T.S. (2011) Three new species of Ipomoea L. (Convolvulaceae) Southern Brazil. Kew Bulletin, v.66, p.289-294.

Filgueira, F.A.R. (2000) Novo Manual de Olericultura, Agrotecnologia Moderna na Produção e Comercialização de Hortaliças, Editora: Viçosa, p, 402.

Filgueira, F.A.R. (2003) Novo manual de olericultura: Agrotecnologia Moderna na produção e comercialização de hortaliças. Viçosa: Editora UFV, 412p.

Francelino, F.M.A., Gravina, G.A., Manhães, C.M.C., Cardoso, P.M.R., Araújo, L.C. (2011) Avaliação de linhagens de feijão-de-vagem para as regiões Norte e Noroeste Fluminense. *Revista Ciência Agronômica* 42: 554-562.

Franzoni, J., Scapim, C. A., Beviláqua, M. R., Pacheco, C. A., & Mangolin, C. A. (2012) Application of microsatellite markers to evaluate the heterozygosity from



the popcorn composite CMS-43 (*Zea mays* L.) during eight cycles of selection. *Plant breeding*, 131:479-485.

Freitas, I.L.J. et al. (2013) Ganho genético avaliado com índices de seleção e com REML/BLUP em milho de pipoca. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 48, n. 11, p.1464-1471.

Galvão, K.S.C., Ramos, H.C.C., Santos, P.H.A.D., Entringer, G.C., Vettorazzi, J.C.F., Pereira, M.G. (2015) Functional molecular markers (EST-SSR) in the full-sib reciprocal recurrent selection program of maize (*Zea mays* L.). *Genetics and Molecular Research* 14:7344-7355.

Garcia, A.A.F., Souza Júnior, C.L. (1999) Comparação de índices de seleção não paramétricos para a seleção de cultivares. *Bragantia*, 58(2):253-267.

Gepts, P. (1998). Origin and evolution of common bean: Past events and recent trends. *Hortscience*, v. 33, n. 7, p. 1124-1130.

Gonçalves, L. O., Pinheiro, J. B., Zucchi, M. I., Silva-Mann, R. (2014) Caracterização genética de mulungu (*Erythrina velutina* Willd.) em áreas de baixa ocorrência. *Revista de Ciência Agronômica*, v. 45, n. 2, p.290-298.

Goulao L, Oliveira CM. (2001). Molecular characterization of cultivars of apple (*Malus domestica* Borkh.) using microsatellite (SSR and ISSR) markers. *Euphytica*. 122:81-89.

Griffiths, A.J.F., Wessler, S., Lewontin, R.C. et al. (2006) Introdução à genética. 8. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.

Gupta, M., Chui, Y.S., Romero-Severson, J., Owen, J.L. (1994). Amplification markers from evolutionarily diverse genomes using single primers of simple-sequence repeats. *Theoretical and Applied Genetics*, v.89, p.998-1006.

- Gupta, S.K., Bansal, R., Gopalakrishna, T. (2014). Development and characterization of genic SSR markers for mungbean (*Vigna radiata* (L.) Wilczek). *Euphytica*, v. 195, n. 2, p. 245-258.
- Haesbaert, F., Santos, D., Lúcio, A., Benz, V., Antonello, B., Ribeiro, A. (2011) Tamanho de amostra para experimentos com feijão-de-vagem em 19 diferentes ambientes. *Ciência Rural* 41: 38-44.
- Hallauer, A. R., Carena, M. J., Miranda Filho, J.B. (2010) Quantitative Genetics in Maize Breeding. Originally published by Iowa State University Press, 1988 3rd ed. XVI, p.664.
- Hamasaki, R.I., Braz, L.T., Purquerio, L.F.V., Peixoto, N, (1998) Comportamento de novas cultivares de feijão-vagem em Jaboticabal-SP, Congresso Brasileiro de Olericultura, 38, Petrolina, Resumo, Petrolina: SOB.
- Harlan, J.R. (1971) Agricultural origins: centers and no centers, Washington, *Science*, v,174, p, 468- 474.
- Harlan, J.R. (1975), Geographic patterns of variation in some cultivated plants, Baltimore, *Journal of Heredity*, v, 66, p,184-191.
- Hazel L.N. (1943) The genetic basics for constructing selection indexes, *Genetics*, 28:476-490.
- Hayes, J.F., Hill, W.G.A. (1980) Reparameterization of a genetic selection index to locate its sampling properties. *Biometrics*, Washington, v. 36, p. 237-248.
- Henderson, C.R. (1953) Estimation of variance and covariance components. *Biometrics*, v.9, p. 226-252.
- Henderson. C.R. (1973) Sire evaluation and genetics trends. In: Animal Breeding and Genetics Symposium in Honor of J. Lush. *American Society of Animal Science*, Champaign, v.3.10-41p.

- Henderson, C.R. (1975) Best linear unbiased estimation and prediction under trends from records subject to culling. *Biometrics*, Raleigh, v.12, n.4, p. 404-414.
- Henderson, C.R., Quaas, R.L., (1976) Multiple trait evaluation using relatives records. *J. Anim. Sci.*,43(6) :1188-1197.
- Jeffreys, A.J.V., Wilson, R., Thein S.L. (1985) Hypervariable 'minisatellite' regions in human DNA. *Nature*, 314:67-73.
- Jena, S.N.; Verma, S.; Nair, K.N.; Srivastava, A.K.; Misra, S.; Rana, T. S. (2015) Genetic diversity and population structure of the mangrove lime (*Merope angulata*) in India revealed by AFLP and ISSR markers. *Aquatic Botany*, v. 120, p. 260–267.
- Júnior, A.F.M. (2010) *Diversidade, estrutura genética e fenologia de populações naturais de Cavanillesia arbórea K. Schum no norte do estado de Minas Gerais*. Tese (Doutorado em Engenharia Florestal) – Universidade Federal de Lavras. Lavras, MG.
- Kahraman, A., Onder, M. (2009) Genetic diversity in the dry bean (*Phaseolus Vulgaris* L.) populations grown in Konya. 1<sup>o</sup> International symposium on sustainable development, Sarajevo.
- Kalia, R.K.; Rai, M.K.; Kalia, S.; Singh, R.; Dhawan, A.K. (2010) Microsatellite markers: an overview of the recent progress in plants. *Euphytica*, 177 (3): 309-334.
- Kilian, A., Huttner, E., Wenzl, P., Jaccoud, D., Carling, J., Caig, V., Evers, M., Heller-Uszynska, Cayla, C., Patarapuwadol, S., Xia, L., Yang, S., Thomson, B. (2005) The fast and the cheap: SNP and DArT-based whole genome proWling for crop improvement. In: Tuberosa, R., Phillips, R.L., Gale, M. (eds) Proceedings of the international congress “In the wake of the double helix: from the green revolution to the gene revolution”. Bologna: Avenue Media, p. 443-461.

- Leal, N.R. (1990) Andra: Nova cultivar de feijão-de-vagem. *Horticultura Brasileira* 8: 29-30.
- Legesse, B.W., Myburg, A.A., Pixley, K.V., Botha, M. (2007) Genetic diversity of African maize inbred lines revealed by SSR markers. *Hereditas*, 144: 10-17.
- Marcondes, M.M., Neumann, M., Marafon, F., Rosário, J.G. do Faria, M.V. (2012) Aspectos do melhoramento genético de milho para produção de silagem. *Revista Brasileira de Tecnologia Aplicada nas Ciências Agrárias*, 5(2):173-192.
- Masi, P., Zeuli, P.I.s., Donini, P. (2003) Development and analysis of multiplex microsatellite markers sets in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) *Molecular Breeding*, Dordrecht, v.11, n.4, p. 303-313.
- Mendes, M.P., Ramalho, M.A.P., Abreu, Â. de F.B. (2011) Strategies for selecting individuals in common bean breeding programs. *Bean Improvement Cooperative*, v.54, p.68-69.
- Mendes, R.F.M. (2014) Variabilidade genética de genótipos crioulos de feijão-caupi analisada por marcadores ISSR. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento) – UFPI. 44p.
- Menezes Júnior, J.A.N. de, Ramalho, M.A.P. (2008) Seleção recorrente para três caracteres do feijoeiro, *Bragantia*, v.67, p.833-838.
- Moura, E.F. (2003) *Divergência genética entre acessos de jaborandi (Pilocarpus microphyllus)*. 75 p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.
- Mulamba, N.N., Mock, J.J., (1978) Improvement of yield potential of the Eto Blanco maize (*Zea mays*. L) population by breeding for plant traits. *Egypt Journal. Alexandria*, v.7, p.40-51.

- Nienhuis, J. et al. (1995) Genetic relationships among cultivars and landraces of lima bean (*Phaseolus lanatus* L.) as measured by RAPD markers. *Journal of the America Society for Horticultural Science*, Alexandria, v.120, n.2, p.300-306.
- Oliveira, E.J., Silva, A.S., Carvalho, A.M., Santos, L.F., Costa, J. L., Amorim, V.B. O., Dantas, J.L.L. (2010) Polymorphic microsatellite marker set for *Carica papaya* L. and its use in molecular-assisted selection. *Euphytica*. 173: 279-287.
- Oliveira, B.S. (2015) *Diversidade genética, produção e qualidade fisiológica de sementes de genótipos arbustivos de feijão-de-vagem*. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Universidade Estadual de Goiás – UEG. 72p.
- Pádua, J.A.R. (2011) *Genética da paisagem: áreas prioritárias para manejo e a conservação de *Eremanthus erythropappus* (DC.) Macleish no Estado de Minas Gerais*. Lavras: Universidade Federal de Lavras. Dissertação Mestrado. 80 p.
- Paran, I., Michelmore, R.W. (1993) Development of reliable PCR-based markers linked to downy mildew resistance genes in lettuce. *Theoretical Applied Genetics*, Berlin, v. 85, p. 985-993.
- Patterson, H.D., Thompson, R. (1971) Recovery of inter-block information when block sizes are unequal. *Biometrika*, v.58, p.545- 554.
- Pedrozo, C.Â. et al. (2009) Eficiência de índices de seleção utilizando a metodologia REML/BLUP no melhoramento da cana-de-açúcar. *Scientia Agraria*, v. 10, p.31-36.
- Peixoto, N.; Silva, L.O., Thung, M.D.T., Santos, G, (1993) Produção de sementes de linhagens e cultivares arbustivas de feijão-de-vagem em Anápolis - GO, *Horticultura Brasileira*. V. 11, n. 2, p. 151-152.
- Pena, G.F. (2015) *Progêniees parcialmente endogâmicas no melhoramento do milho-pipoca: análise biométrica de topcrosses e divergência genética funcional*

*por marcadores SSR-EST*. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Campos dos Goytacazes - RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense – UENF, 128p.

Pereira, M.G., Pereira, T.N.S., Viana, A.P. (2005) Marcadores moleculares aplicados ao melhoramento genético do maracujazeiro. In: FALEIRO, F.G.; JUNQUEIRA, N.T.V.; BRAGA, M.F. Maracujá: germoplasma e melhoramento genético. *Planaltina: Embrapa Cerrados*. pp. 277-292.

Pereira, H.S., Santos, J.B dos, Couto, K.R. (2007), Informações fenotípicas e marcadores microssatélites de QTL na escolha de populações segregantes de feijoeiro, *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v,42, p,707-713.

Pereira, H.S., Santos, J.B. dos, Souza, T.P. de, Lima, I.A. (2008). Seleção fenotípica e assistida por marcadores moleculares de famílias de feijoeiro-comum com alta produtividade. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.43, p.1551-1558.

Pereira, T.B. et al. (2013) Eficiência da seleção de progênies de café F<sub>4</sub> pela metodologia de modelos mistos (REML/BLUP). *Bragantia*, Campinas, v. 72, n. 3, p.230-236.

Pereira, V., Gris, D., Marangoni, T., Frigo, J, Azevedo, K., Grzesiuck, A. (2014) Exigências agroclimáticas para a cultura do feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). *Revista Brasileira de Energias Renováveis* 3: 32-42.

Pesek, J., Baker. (1969) Desired improvement in relation to selected índices. *Canadian Journal Plant Science*, 49:803-804.

Pimentel Gomes, F. (ed.) (2000) Curso de Estatística Experimental. Piracicaba: Degaspari, 477p.

- Pimentel, A.J.B. et al. (2014) Estimação de parâmetros genéticos e predição de valor genético aditivo de trigo utilizando modelos mistos. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.49, n.11, p. 882-990.
- Pimentel Gomes, F., Garcia. C.H. (2002) Estatística aplicada a experimentos agrônômicos e florestais: exposição com exemplos e orientações para o uso de aplicativos. Piracicaba: FEALQ. 309p.
- Pinheiro, L.C. de M. et al. (2013) Parentesco na seleção para produtividade e teores de óleo e proteína de soja via modelos mistos. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.48, p. 1246-1253.
- Pípolo, C.V., Vizoni, É., Giroto, J.C.M. (2001) Determinação do melhor período para realização de cruzamento artificial em feijão-de-vagem, *Phaseolus vulgaris* L., em Londrina, Estado do Paraná. *Acta Scientiarum Agronomy*, Maringá, 23(5):1191-1193.
- Polhill, R.M., Raven, P.H., Stirton, C.H. (1981) Evolution and systematics of the Leguminosae, In: Advances in legume systematics, *Royal Botanic Gardens*, p,1- 26.
- Preczenhak A.P. (2013) *Diversidade genética estimada por meio de marcadores moleculares e morfoagronômicos em acessos de mini-tomate*. Dissertação (mestrado). Universidade Federal do Centro-Oeste. Guarapuava – Paraná.
- Ramalho, Magno A., Santos, J.B. (1982) Melhoramento do Feijão. *Informativo Agropecuário*, Belo Horizonte, v 8, n. 90, p. 16-19.
- Ramalho, M.A.P., Araújo, L.C. de A. (2011) Breeding self- pollinated plants. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, v.11, p.1- 7.
- Ramalho, M.A.P. et al. (2013) Perspectives for the use of quantitative genetics in breeding of autogamous plants. *ISRN Genetics*, v.2013.

- Rava, C.A., Costa, J.G.C., Fonseca, J.R., Salgado, A.L. (2003) Fontes de resistência a antracnose, crestamento bacteriano comum e murcha de *Curtobacterium* em coletas de feijoeiro comum. *Revista Ceres*, 50 (292): 797-802.
- Resende, M.D.V (2001) Estimativas de parâmetros genéticos e predição de valores genotípicos no melhoramento do cafeeiro pelo procedimento REML/Blup. *Bragantia*. v, 60, p.185-193.
- Resende, M.D.V.de. (2002) Genética biométrica e estatística no melhoramento de plantas perenes. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica; Colombo: Embrapa Florestas, 2002. 975p.
- Resende, M.D.V. (2007) *Software* SELEGEN-REML/BLUP: sistema estatístico e seleção genética computadorizada via modelos lineares mistos. Colombo: Embrapa Florestas.
- Resende, M.D.V. de; Sturion, J.A. (2001) Análise genética de dados com dependência espacial e temporal no melhoramento de plantas perenes via modelos geoestatísticos e de séries temporais empregando REML/BLUP ao nível individual. Colombo: Embrapa Florestas. 80p. (Embrapa Florestas. Documentos, 65).
- Resende, M.D.V. (2002) Genética biométrica e estatística no melhoramento de plantas perenes. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica. 975p.
- Roy, G., Laflame, L., Tremblay, N. (2000) Évolution des calibres et des rendements de cultivars de haricot destinés à la transformation. *Canadian Journal of Plant Science* 80: 869-873.
- Rosado, A. M., Rosado, T. B., Alves, A. A., Laviola, B. G. e Bhering, L. L. (2012). Seleção simultânea de clones de eucalipto de acordo com produtividade, estabilidade e adaptabilidade. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 47, 964-971.



- Rodrigues, R. (1997) Análise genética da resistência ao cretamento bacteriano comum e outras características agrônômicas em *Phaseolus vulgaris* L. Campos dos Goytacazes, RJ: UENF, 103p. (Tese doutorado)
- Rodrigues, R., Leal, N.R., Lam-Sánchez, A. (1998) Análise dialéctica de cinco cultivares de feijão para resistência ao cretamento bacteriano comum. *Horticultura Brasileira*. 16(1), p. 61-64.
- Rodrigues, L.S. et al. (2002) Divergência genética entre cultivares locais e cultivares melhoradas de feijão. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.37, p.1275-1284.
- Rodrigues, W.P., Vieira, H.D., Barbosa, D.H., Souza Filho, G.R., Candido, L.S. (2013) Adaptability and genotypic stability of *Coffea arabica* genotypes based on REML/BLUP analysis in Rio de Janeiro State, Brazil. *Genetics and Molecular Research*, v.12, p. 2391 - 2399.
- Rohlf, F.J. (2005) NTSYS-pc. Numerical taxonomy and multivariate analysis system. Setauket: Exeter Software. Version 2.2.
- Roy, G., Laflame, L., Tremblay, N. (2000) Évolution des calibres et des rendements de cultivars de haricot destinés à la transformation. *Canadian Journal of Plant Science* 80: 869-873.
- Rosado, A.M., Rosado, T.B., Alves, A.A., Laviola, B.G., Bhering, L.L. (2012) Seleção simultânea de clones de eucalipto de acordo com produtividade, estabilidade e adaptabilidade. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 47, 964-971.
- Rodrigues, R. (1997) Análise genética da resistência ao cretamento bacteriano comum e outras características agrônômicas em *Phaseolus vulgaris* L. Campos dos Goytacazes, RJ: UENF, 103 p. (Tese doutorado)
- Santana, I.B.B., Oliveira, E.J., Filho, W.S.S., Ritzinger, R., Amorin, E.P., Costa, M.A.P.C., Moreira, R.F.C. (2011) Variabilidade genética entre acessos de

umbu-cajazeira mediante análise de marcadores ISSR. *Revista Brasileira de Fruticultura*, v. 33, p. 868 - 876.

Santos, C.A.F., Araújo, F.P.de. (2001) Aplicação de índices para seleção de caracteres agronômicos de feijão de corda. *Ciências Agronômicas*, v. 32, n. ½, p.78-84.

Santos, F. S. et al. (2007) Predição de ganhos genéticos por índice de seleção na população de milho-pipoca UNB2U sob seleção recorrente. *Bragantia*, Campinas, v. 66, n. 3, p. 389-396.

Santos, D., Haesbaert, F., Lúcio, A., Storck, L., Cargnelutti Filho, A. (2012) Tamanho ótimo de parcela para a cultura do feijão-vagem. *Revista Ciência Agronômica* 43: 119-128.

Santos, V.S. et al. (2014) Aplicação da PCAM e da análise de agrupamento em clones de cupuaçuzeiro. *Revista da Estatística UFOP*. Vol III(3). ISSN 2237-8111.

Schlötterer, C. (2004) The evolution of molecular markers - just a matter of fashion? *Nature Reviews Genetics*, 5:63-69.

Schulman, A.H. (2007) Molecular markers to assess genetic diversity. *Euphytica* 158:313-321.

Sistema IBGE de Recuperação automática (SIDRA) (2006): <http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/tabela/listabl.asp?z=t&o=19&i=P&c=818> em 12/10/2012 página mantida pelo IBGE.

Silva, M.P., Amaral Júnior, A.T., Rodrigues, R., Daher, R.F., Leal, N.R., Schuelter, A.R. (2004) Análise dialéctica da capacidade combinatória em feijão-de-vagem. *Horticultura Brasileira*, 22(2):277-280.

- Silva, G. O., Carvalho, A. D. F., Veira, J. V. e Benin, G. (2011). Verificação da adaptabilidade e estabilidade de populações de cenoura pelos métodos AMMI, GGE biplot e REML/BLUP. *Bragantia*, 70, 494-501..
- Silva, M.G.M., Viana, A.P. (2012) Alternativas de seleção em população de maracujazeiro-azedo sob seleção recorrente intrapopulacional. *Revista Brasileira de Fruticultura*, Jaboticabal, v. 34, n. 2, p. 525 -531.
- Soller, M., Beckmann, J.S. (1983) Genetic polymorphism in varietal identification and genetic improvement. *Theoretical and Applied Genetics*, 67:25-33.
- Sousa, C.M.B. (2015) *Seleção de progenies F<sub>2</sub> de feijão-de-vagem para produção via modelos mistos*. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, 56 f.
- Souza VC, Lorenzi H. (2005). Botânica sistemática: Guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora Brasileira, baseado em APG II. Plantarum. Nova Odessa.
- Smith, H.F.A. (1936) Discriminant function for plant selection. *Annual Eugenics*. 7:240-250.
- Sudhir, K., Glen, S., Koichiro, T. (2016) MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets. *Mol Biol Evol* 2016; 33 (7): 1870-1874. doi: 10.1093/molbev/msw054
- Sudré, C.P. et al. (2005) Divergência genética entre acessos de pimento e pimentão utilizando técnicas multivariadas. *Horticultura Brasileira*, v.23, p.22-27.
- Teixeira, F.F., Santos, J.B. dos, Ramalho, M.A.P., Abreu, A. de F.B., Guimarães, C.T., Oliveira, A.C. de. (2005) QTL mapping for angular leaf spot in common bean using microsatellite markers. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, v.5, p.272-278.

- Tautz, D. (1989) Hypervariability of simple sequences as a general source for polymorphic DNA markers. *Nucleic Acids Research*, 17:6463-6471.
- Teixeira, D.H.L., Oliveira, M. do S.P. de, Gonçalves, F.M.A., Nunes, J.A.R. Índices de seleção no aprimoramento simultâneo dos componentes da produção de frutos em açaizeiro. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.47, p.237-243, 2012. DOI: 10.1590/S0100-204X2012000200012.
- Thompson, R. (1973) The estimation of variance and covariance components when records are subject to culling. *Biometrics*, v. 29, p. 527-550, 1973.
- Thompson, R. (1976) Relationship between the cumulative difference and best linear unbiased predictor methods of evaluating bulls. *Animal Production*, v. 23, p. 15-24.
- Thompson, R. (1977) The estimation of heritability with unbalanced data. *Biometrics*, v. 33, p. 485-504.
- Thompson, R. (1979) Sire evaluation. *Biometrics*, v. 35, p. 339-353.
- Thompson, R. (1980) Maximum likelihood estimation of variance components. *Mathematik Operationsforsh Statistik*, v. 11, p. 545-561.
- Torga, P.P., Santos, J.B. dos, Pereira, H.S., Ferreira, D.F., Leite, M.E. (2010) Seleção de famílias de feijoeiro baseada na produtividade, no tipo de grãos e informações de QTLs. *Ciência e Agrotecnologia*, v.34, p.95-100.
- Torres, F.E. et al (2015) Interação genótipo x ambiente em genótipos de feijão-caupi semiprostrado via modelos mistos. *Bragantia*, Campinas.
- Tsukaguchi, T., Fukamachi, H., Ozawa, K., Takeda, H., Suzuki, K., Egawa, Y. (2005) Diurnal change in water balance of heat-tolerant snap bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivar and its association with growth under high temperature. *Plant Production Science* 8: 375-382.

- Vasconcelos, E.S. et al. (2010) Estimativas de ganho genético por diferentes critérios de seleção em genótipos de alfafa. *Revista Ceres*, Viçosa, v. 57, n. 2, p. 205-210.
- Verneque, R.S., Valente, J. (2001) Avaliação genética de vacas e touros. In: VALENTE, J.; DURÃES, M.C.; MARTINEZ, M.L.; TEIXEIRA, N.M. (Ed.). *Melhoramento genético de bovinos de leite*. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite. v. 1, p. 127-154.
- Vilela, F.O. (2008) *Melhoramento genético de feijão-de-vagem (Phaseolus vulgaris L.) Avanço de gerações via SSD, uso de índices de seleções estatísticas P1 na identificação de genótipos superiores*. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Campos dos Goytacazes – RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense – UENF, 145 p.
- Vilhordo, B.W., Mikusinski, O.M.F., Burin, M.E., Gandolf, V.H. (1996) Morfologia. IN: Araújo, R.S., Rava, C.A., Stone, L.F., Zimmermann, M.J.O (eds.). *Cultura do feijoeiro: fatores que afetam a produtividade*. Piracicaba. Associação Brasileira para pesquisa da potassa e do fosfato, p. 669 -700.
- Vos, P., Rogers, R., Bleeker, M., Reijans, M., Van de Le, T., Hornes, M., Frijters, A., Pot, J., Peleman, J., Kuipe, M., Zabeau, M. (1995) AFLP: A new technique for dna fingerprinting. *Nucleic Acids Research*, v.23, p. 4407-4414.
- Zietkiewicz, E., Rafalski, A., Labuda, D. (1994) Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification. *Genomics*, v.20, n.2, p.176-183.
- Zimmermann, M.J.O., Carneiro, J.E.S., Peloso, M.J., Costa, J.G.C., Rava, C.A., Sartorato, A., Pereira, P.A.A. (1996) Melhoramento genético e cultivares, In: Araújo, R.S.; Rava, C.A.; Stone, L.F.; Zimmermann, M.J.O, eds, *Cultura do feijoeiro comum no Brasil*, Piracicaba: Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fosfato, p.223-273.

- Zimmermann, M.J. de O., Teixeira, M.G. (1996) Origem e evolução. In: ARAÚRO, R. S. et al. *Cultura do feijoeiro comum no Brasil*. Piracicaba. POTAFOS, p. 57-70.
- Wang, C.M. et al. (2011). A first generation microsatellite and SNP based linkage map of *Jatropha*. Plos One, San Francisco, v.6, n.8, p.1-8.
- Wang, Q.; Huang, M. Downie, S.R.; Chen, Z.; Chen, Y. (2015) Genetic diversity and structure of the noxious alien grass *Praxelis clematidea* in Southern China. *Biochemical Systematics and Ecology*, v.59, p.183-189.
- Williams J.S. (1962) The evolution of a selection index. *Biometrics*.
- Williams, J.G.K.; Kenneth, A.R.K.; Rafalski, J.A.; Tingey, S.V. (1990) DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Research*. v. 18, n. 22, p. 6531-6535.
- Wünsch, A.; Hormaza, J.I. (2007) Characterization of variability and genetic similarity of European pear using microsatellite loci developed in apple. *Scientia Horticulturae*, v.113, p.37-43.