



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA**  
**CAMPUS II - AREIA - PB**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

**MARIA DAS GRAÇAS RODRIGUES DO NASCIMENTO**

**ASPECTOS GENÉTICOS E QUALIDADE FISIOLÓGICA DE SEMENTES**  
**CRIOULAS DE *Phaseolus lunatus* L.**

**AREIA**

**2020**

**MARIA DAS GRAÇAS RODRIGUES DO NASCIMENTO**

**ASPECTOS GENÉTICOS E QUALIDADE FISIOLÓGICA DE SEMENTES  
CRIOULAS DE *Phaseolus lunatus* L.**

Tese de Doutorado submetida como requisito para  
obtenção do título de **Doutora em Agronomia**, no  
Programa de Pós-Graduação em Agronomia,  
Centro de Ciências Agrárias, da Universidade  
Federal da Paraíba.

*Sob Orientação da Professora*

*Edna Ursulino Alves*

AREIA

2020

**Catálogo na publicação**  
**Seção de Catalogação e Classificação**

N244a Nascimento, Maria das Graças Rodrigues do.  
Aspectos genéticos e qualidade fisiológica de sementes  
crioulas de *Phaseolus lunatus* L. / Maria Das Graças  
Rodrigues do Nascimento. - Areia, 2020.  
136 f. : il.

Orientação: Edna Ursulino Alves.  
Coorientação: Naysa Ferreira do Nascimento.  
Tese (Doutorado) - UFPB/CCA.

1. Fava. 2. Cromossomo. 3. Diversidade genética. 4.  
Incidência fúngica. 5. Tolerância a estresses  
abióticos. 6. Germinação. 7. Vigor. I. Alves, Edna  
Ursulino. II. Nascimento, Naysa Ferreira do. III.  
Título.

UFPB/CCA-AREIA

CDU 631/635(043.2)

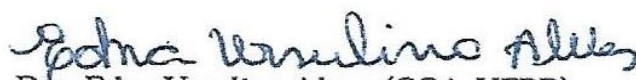
UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

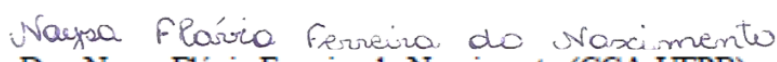
CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

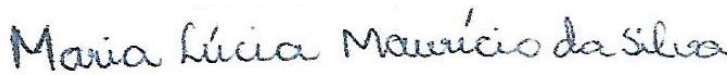
ASPECTOS GENÉTICOS E QUALIDADE FISIOLÓGICA DE SEMENTES  
CRIOULAS DE *Phaseolus lunatus* L.

AUTOR: MARIA DAS GRAÇAS RODRIGUES DO NASCIMENTO

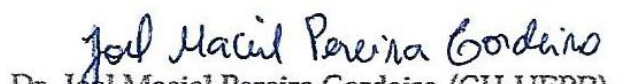
Defendido como parte das exigências para obtenção do título de DOUTORA em  
AGRONOMIA (Agricultura Tropical) pela comissão examinadora:

  
Dra. Edna Ursulino Alves (CCA-UFPB)  
(Orientadora)

  
Dra. Naysa Flávia Ferreira do Nascimento (CCA-UFPB)  
(Co-Orientadora)

  
Dra. Maria Lúcia Maurício da Silva  
(Examinadora)

  
Dr. Fábio Mielezski (CCA-UFPB)  
(Examinador)

  
Dr. Joel Maciel Pereira Cordeiro (CH-UEPB)

  
Dra. Luciana Rodrigues de Araújo (SE-PMA)  
(Examinadora)

Data da aprovação: 01/03/2020

Presidente da Comissão Examinadora

Dr<sup>a</sup>. Edna Ursulino Alves  
Orientadora

## **Dedico**

*Ao meu Deus, que me fortalece em todos os momentos, não me abandona jamais.*

*A meus pais queridos que tanto amo: Maria Hilda Rodrigues do Nascimento e João Félix do Nascimento*

*In memória: Minha Tia Maria da Penha Rodrigues da Silva que sempre acreditou na minha capacidade.*

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, por cada uma das graças concedidas durante toda a minha vida minha gratidão!

A minha Mãe Rainha Nossa Senhora por toda sua intercessão junto ao Pai Eterno por mim.

Ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia, do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Paraíba, pela oportunidade de realizar o meu Doutorado.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudo, fundamental para realização do Doutorado.

A minha orientadora, Profa Dra. Edna Ursulino Alves pela paciência e compreensão meu muito obrigada, que Deus a ilumine em sua caminhada sempre.

A minha Co-Orientadora. Profa. Dra. Naysa Flávia Ferreira do Nascimento pela colaboração no trabalho.

A toda minha família, em especial aos meus pais queridos Maria Hilda Rodrigues do Nascimento e João Félix do Nascimento, amores da minha vida, meu muito obrigada, sem vocês não sou nada.

Aos meus irmãos: Manuel, Christiana, Emanuela e Ezaquiel por todo o apoio e carinho que sempre me dão.

Aos meus sobrinhos lindos, Yohana, Rafael e Ágatha pela alegria que me proporcionam risadas gostosas e vontade de crescer ainda mais.

Aos professores que participaram desta fase da minha vida acadêmica, direta e indiretamente.

Ao Prof. Dr. Leonardo Pessoa Félix e ao Dr. Joel Maciel Pereira Cordeiro pelo seu apoio no Laboratório de Botânica.

A Profa. Dra. Luciana Cordeiro do Nascimento pelo consentimento e apoio nas análises sanitárias no Laboratório de Fitopatologia.

A Profa. Dra. Silvanda de Melo Silva pelos consentimentos e apoio nas análises bioquímicas no Laboratório de Biologia e Tecnologia de Pós-Colheita.

As minhas grandes amigas que mesmo distante me apoiam na caminhada, Milagres, Sonale.

A minha prima Maria José, pessoa maravilhosa que sempre me dá forças para seguir em frente.

As minhas queridas amigas, Luciana Menino Guimarães e Juliana Pereira da Silva que me apoiam e estão sempre na torcida por mim.

A Maria Lúcia Maurício da Silva, que me apoiou nesta fase da minha vida com sua amizade, conversas acadêmicas e extra acadêmicas, meus sinceros agradecimentos.

Aos meus colegas do curso de Pós-Graduação turma de 2016.1, por toda a convivência, nos bons e maus momentos que vão ficar como aprendizados.

Aos amigos de caminhada nesta fase: Flávio Ricardo da Silva Cruz, José Thyago, Aline, Denise, Antônia, Janailma, Valéria, Maria Lúcia Maurício da Silva, Edlânia Maria de Sousa, Assis e Joel Maciel Pereira Cordeiro, meu muito obrigada pelas conversas e apoio.

A minha amiga e companheira de apartamento nesta fase Aline Batista Belém com quem convivi bons momentos que ficarão guardados em minhas lembranças.

Aos amigos: Maria Joelma da Silva, Joel Maciel Pereira Cordeiro, Maria Lúcia Maurício da Silva, Francisco de Assys Romero da Mota Sousa e Thiane que participaram diretamente na execução deste trabalho.

A todos os colegas do Laboratório de Análise Sementes, Maria Lúcia Maurício da Silva, Rosemere dos Santos Silva, Maria Mercês Serafim dos Santos Neta, Eriflanklin Nascimento Santos, Lana Cecília Lima de Oliveira, Maria Luíza de Souza Medeiros, Galileu Medeiros da Silva, Maria Joelma da Silva, Caroline Marques Rodrigues, Maria das Graças Araújo e Angelita Lima da Silva, pela oportunidade de convivência com todos.

Ao casal Maria Aparecida e José Thyago Aires Souza, meus sinceros agradecimentos pela companhia em alguns momentos maravilhosos, amigos que quero levar para toda a vida.

Ao Sr. Chico Galdino da comunidade Massapê (Queimadas-PB), pela sua grande e valiosa contribuição no fornecimento de sementes para este trabalho.

A minha fonoaudióloga Isa Araújo de Vasconcelos pelo carinho e apoio nos momentos difíceis desta caminhada.

A toda equipe do setor de fissurados do Hospital Universitário Lauro Wanderley por todo apoio nesta jornada.

A minha “psicóloga” Maria Lúcia Maurício da Silva por toda sua atenção comigo nos momentos críticos nesta fase da minha vida.

A todos que direta ou indiretamente fizeram parte de mais uma etapa vitoriosa, e que mesmo não mencionados aqui sabem da sua importância em algum momento da minha vida.

A vocês, a minha mais sincera gratidão!

A semente já é árvore, mas em potencial. Terá de passar pelo processo de superar todas as adversidades de seu espaço para finalmente chegar a ser o que já era em potencial.

Será necessário crescer, lutar para alcançar tudo o que já é, mas em potencial.

Pe. Fábio de Melo

## LISTA DE FIGURAS

Artigo I - Análise cariotípica em diferentes variedades de sementes crioulas de *Phaseolus lunatus* L. (Phaseole, Fabaceae)

Figura 1. Variedades crioulas de *Phaseolus lunatus* L.....55

Figura 2. Células mitóticas em diferentes variedades crioulas de *Phaseolus lunatus* L.....56

Figura 3. Células mitóticas em diferentes variedades crioulas de *Phaseolus lunatus* L.....57

Figura 4. Padrão de bandas CMA/DAPI (A) e kariograma (B) de variedades crioulas de *Phaseolus lunatus* L.....58

Artigo II - Potencial genético em sementes crioulas de *Phaseolus lunatus* L.

Figura 1. Sementes de variedades crioulas de *Phaseolus lunatus* L.....65

Figura 2. Forma da semente de *Phaseolus lunatus* L de acordo com IPGRI (2001).....66

Figura 3. Dendograma obtido pelo método UPGMA, baseado na distância generalizada de Mahalanobis de agrupamento das cultivares crioulas de *Phaseolus lunatus* L., pelo método UPGMA.....74

Figura 4. Dendrograma de dissimilaridades genéticas entre 29 variedades crioulas de *Phaseolus lunatus* L., obtido pelo método UPGMA com base no algoritmo de Gower.....75

Artigo III - Qualidade fisiológica de sementes crioulas de *Phaseolus lunatus* L.

Figura 1. Sementes crioulas de variedades de *Phaseolus lunatus* L., inviáveis e viáveis.....90

Artigo IV - Germination and vigor of seeds of landraces varieties of *Phaseolus lunatus* L. submitted to salinity conditions

Figura 1. Primeira contagem de germinação de sementes de variedades crioulas de *Phaseolus lunatus* L., submetidas às concentrações salinas.....107

Figura 2. Índice de velocidade de germinação de sementes de variedades crioulas de *Phaseolus lunatus* L., submetidas às concentrações salinas.....108

Figura 3. Comprimento de raízes e parte aérea de plântulas de *Phaseolus lunatus* L., oriundas de sementes de variedades crioulas submetidas às concentrações salinas.....109

Figura 4. Massa seca de raízes e parte aérea de plântulas de *Phaseolus lunatus* L., oriundas de sementes de variedades crioulas submetidas às concentrações salinas.....111

Artigo V - Incidência fúngica em sementes crioulas de *Phaseolus lunatus* L.

Figura 1. Ocorrência fúngica em sementes de variedades crioulas de *Phaseolus lunatus* L.....133

## LISTA DE TABELAS

Artigo I - Análise cariotípica em diferentes variedades de sementes crioulas de *Phaseolus lunatus* L. (Phaseole, Fabaceae)

Tabela 1. Procedência, número cromossômico, índice centromérico, tamanho médio e padrão de bandas de variedades crioulas de *Phaseolus lunatus* L.....59

Artigo II - Potencial genético em sementes crioulas de *Phaseolus lunatus* L.

Tabela 1. Variedades crioulas de *Phaseolus lunatus* L.....64

Tabela 2. Quadrados médios da análise de variância conjunta entre as variedades crioulas de *Phaseolus lunatus* L.....68

Tabela 3. Teste de médias das características de variedades crioulas de *Phaseolus lunatus* L., comprimento, largura, espessura, padrão do tegumento e forma da semente .....70

Tabela 4. Distância de Mahalanobis entre as variedades crioulas de *Phaseolus lunatus* L.....73

Tabela 5. Agrupamento das variedades de crioulas de *Phaseolus lunatus* L. pelo método de Tocher.....74

Artigo III - Qualidade fisiológica de sementes crioulas de *Phaseolus lunatus* L.

Tabela 1. Análise de variância para as características de umidade, germinação, primeira contagem de germinação, índice de velocidade de germinação, peso de mil sementes, comprimento e massa seca de plântulas, sementes viáveis e inviáveis, carboidratos, proteínas em sementes e plântulas de variedades crioulas de *Phaseolus lunatus* L.....87

Tabela 2. Umidade, germinação e vigor (primeira contagem e índice de velocidade de germinação - IVG) das sementes de variedades crioulas de *Phaseolus lunatus* L.....88

Tabela 3. Peso de mil sementes, comprimento e massa seca de plântulas e condutividade elétrica das sementes de variedades crioulas de *Phaseolus lunatus* L.....89

Tabela 4. Sementes viáveis e inviáveis pelo teste de tetrazólio, carboidratos e proteínas das sementes de variedades crioulas de *Phaseolus lunatus* L.....90

Tabela 5. Matriz de correlação entre variáveis germinação, primeira contagem de germinação, índice de velocidade de germinação, peso de mil sementes, comprimento de plântulas, massa seca de plântulas, condutividade elétrica, umidade das sementes, sementes viáveis, sementes inviáveis, açúcares e proteínas em sementes de variedades crioulas de *Phaseolus lunatus* L.....92

Tabela 6. Estimativa da repetibilidade entre as variáveis germinação, primeira contagem de germinação, índice de velocidade de germinação, peso de mil sementes, comprimento de plântulas, massa seca de plântulas, condutividade elétrica, umidade das sementes, sementes viáveis, sementes inviáveis, açúcares e proteínas em sementes de variedades crioulas de *Phaseolus lunatus* L.....93

Artigo IV - Incidência fúngica em sementes crioulas de *Phaseolus lunatus* L.

Tabela 1. Procedência das sementes de variedades crioulas de *Phaseolus lunatus* L.....103

Tabela 2. Resumo da análise de variância para percentual de germinação, primeira contagem de germinação, índice de velocidade de germinação, comprimento de raízes e parte aérea de plântulas, massa seca de raízes e parte aérea oriundas das sementes de variedades crioulas de *Phaseolus lunatus* L. submetidas a diferentes concentrações salinas (NaCl).....106

Artigo V - Ocorrência fúngica em sementes de variedades crioulas de *Phaseolus lunatus* L.

Tabela 1. Análise de variância baseada no modelo generalizado na distribuição de Poisson, verificando a ocorrência de fungos nas sementes de variedades crioulas de *Phaseolus lunatus* L.....132

Tabela 2. Análise de variância da germinação, primeira contagem e índice de velocidade de germinação nas sementes de variedades crioulas de *Phaseolus lunatus* L.....132

Tabela 3. Germinação, primeira contagem e índice de velocidade de germinação (IVG) das sementes de variedades crioulas de *Phaseolus lunatus* L.....132

## RESUMO GERAL

A fava, também conhecida como feijão-fava ou feijão-de-lima (*Phaseolus lunatus* L.) está entre as quatro espécies do gênero *Phaseolus* mais exploradas e produzidas mundialmente. É uma cultura utilizada na alimentação humana e animal, para fornecer proteína vegetal, podendo ainda ser aproveitada como adubo verde ou cultura de cobertura para proteção do solo e. O objetivo deste foi quantificar a diversidade genética, bem como avaliar a qualidade física, fisiológica e sanitária de sementes crioulas de fava. As sementes foram adquiridas de agricultores familiares dos estados da Paraíba e Pernambuco. As sementes de 19 variedades de fava foram submetidas à análise citogenética através do método de coloração com fluorocromo CMA e DAPI. A diversidade genética foi através de análises uni e multivariadas utilizando-se sementes de 29 variedades, as quais foram caracterizadas através de variáveis quantitativas e qualitativas. Para qualidade fisiológica foi determinado o teor de água, peso de mil sementes e avaliação da germinação e vigor (primeira contagem de germinação, índice de velocidade de germinação, comprimento e massa seca de plântulas, teste de tetrazólio, condutividade elétrica) e composição química. Na simulação do estresse salino foi utilizado como soluto o cloreto de sódio (NaCl), nas concentrações de 0,0 (testemunha); 2,0; 4,0; 6,0; 8,0 e 10,0 dS m<sup>-1</sup>. A pesquisa para qualidade sanitária e qualidade fisiológica foi realizada com sementes de seis variedades crioulas de *P. lunatus* (Branca, Cancão, Cavalinha, Manteiguinha, Orelha de Vó e Rainha). Após a instalação dos testes foram avaliadas as seguintes variáveis: ocorrência fúngica, germinação, primeira contagem e índice de velocidade de germinação. A análise cariotípica envolvendo 19 variedades de *Phaseolus lunatus* L., confirmou a existência de estabilidade cariotípica em relação ao número cromossômico (2n = 22) e padrão de bandas heterocromáticas, onde são registradas 22 bandas CMA<sup>+</sup>/DAPI<sup>-</sup> pericentroméricas e duas bandas CMA<sup>+</sup>/DAPI<sup>-</sup> terminais; embora em *P. lunatus* ocorra ampla variação no tamanho, forma e cor das suas sementes, estas diferenças morfológicas não são correlacionadas a caracteres cariotípicos; as variedades mais dissimilares foram Carrapato e Miúda, Orelha de Vó e Miúda; Orelha de Vó e Coquinho Moita Vermelha, Rixinou e Miúda, Sinhazinha e Coquinho Moita Vermelha; as variáveis que mais contribuíram para a divergência genética entre as variedades crioulas de *P. lunatus* foram comprimento, largura, forma e padrão de tegumento das sementes. As variedades Orelha de Vó, Orelha de Vó, Raio de Sol, Coquinho, Fava Feijão, Coquinho Moita Vermelha e Miúda são as indicadas para obtenção de genótipos superiores em programas de melhoramento interpopulacional; as sementes de variedade crioulas de *P. lunatus* são diferenciadas quanto a sua viabilidade através do teste de tetrazólio; a composição química das sementes das variedades crioulas de *P. lunatus* é diferenciada, sendo aquelas da Eucalipto PE com maior teor de carboidratos e da variedade Raio de sol com elevado teor de proteína; é importante a correlação positiva entre os testes de germinação e o vigor das sementes crioulas de *P. lunatus*, pois com isso pode identificar a existência de interrelação entre estes testes. A germinação das sementes de variedades crioulas de *P. lunatus* é 98% em concentrações salinas de até 10 dS m<sup>-1</sup>; os gêneros de fungos presentes nas sementes das variedades crioulas de *P. lunatus* são *Alternaria* sp., *Aspergillus* sp., *Basiodiplodia* sp., *Cladosporium* sp., *Fusarium* sp., *Penicillium* sp., *Rizhopus* sp., *Rizoctonia* sp. e *Trichoderma* sp.; o *Penicillium* sp. é fungo com maior incidência entre as variedades crioulas de *P. lunatus*.

**Palavras-chave:** Fava. Cromossomos. Diversidade genética. Incidência fúngica. Tolerância a estresses abióticos. Germinação. Vigor.

## ABSTRACT

Lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) is among the most produced beans worldwide, providing vegetable protein for human and animal feed and serving as green manure or crop cover for soil protection. This study quantifies the genetic diversity in bean seeds native from Brazil and evaluates these seeds' physical, physiological, and sanitary quality. The seeds were purchased from family farmers in the states of Paraíba and Pernambuco. Cytogenetic analyses were performed on 19 landraces using the fluorochrome staining method CMA and DAPI. Uni and multivariate analyzes estimated the genetic diversity from 29 landrace seeds, which were quantitative and qualitatively characterized. Physiological quality analyses comprised the water content, weight of a thousand seeds, evaluation of germination and vigor (first germination count, germination speed index, length and dry mass of seedlings, tetrazolium test, electrical conductivity), and chemical composition. For the simulation of saline stress, sodium chloride (NaCl) was used in the concentrations of 0.0 (control), 2.0, 4.0, 6.0, 8.0, and 10.0 dS m<sup>-1</sup>. Each treatment underwent germination tests. Two hundred seeds were used divided into four repetitions of 50. The first count and germination speed index were recorded during the germination test. The length and dry mass of roots and aerial part of seedlings were measured at the end of germination tests. Normal seedlings (with primary root and hypocotyl) in a row were placed in drying ovens to estimate dry mass weight. The sanitary and physiological quality analyses used seeds of six of *P. lunatus* landraces (Branca, Cancão, Cavalinha, Manteiguinha, Orelha de Vó, and Rainha). We evaluated the following variables: fungal occurrence, germination, first count, and germination speed index. The cytogenetic analysis showed that all landraces have  $2n = 22$  chromosomes. Karyotypes have an average size between 2.45 and 5.85  $\mu\text{m}$  are relatively symmetrical and predominantly metacentric. The analysis of variance showed genetic variability among the landraces of *P. lunatus* for all evaluated characteristics. Landraces indicated for selection are Branca, Coquinho Moita Vermelha, Miúda, Manteiga, Raio de Sol, Orelha de Vó. The positive correlation between the germination tests and the vigor of the *P. lunatus* is important landraces seeds, as this can identify the existence of interrelationship between these tests. The landraces differ in the physiological quality and vigor of seeds. Landraces also differed when germinated under saline stress up to 10 dS m<sup>-1</sup>. Fungal infections varied both between and within landraces. Percentage of germination, first count, and the germination speed index were higher than 90% for the seeds of five landraces, except for Cavalinha. The fungi genera found in the seeds were: *Alternaria* sp., *Aspergillus* sp., *Basiodiplodia* sp., *Cladosporium* sp., *Fusarium* sp., *Penicillium* sp., *Rhizopus* sp., *Rhizoctonia* sp., and *Trichoderma* sp; *Penicillium* sp. it is a fungus with higher incidence among the landraces varieties of *P. lunatus*.

**Keywords:** Butter bean. Chromosomes. Genetic diversity. Fungal incidence. Tolerance to abiotic stresses. Germination. Vigor.

## SUMÁRIO

|     |                                                                                                                                       |    |
|-----|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 1.  | INTRODUÇÃO GERAL.....                                                                                                                 | 17 |
| 2.  | REFERENCIAL TEÓRICO.....                                                                                                              | 19 |
| 2.1 | Sementes crioulas.....                                                                                                                | 19 |
| 2.2 | Caracterização da espécie.....                                                                                                        | 20 |
| 2.3 | Importância econômica.....                                                                                                            | 21 |
| 2.4 | Citogenética.....                                                                                                                     | 22 |
| 2.5 | Diversidade genética da espécie.....                                                                                                  | 24 |
| 2.6 | Qualidade fisiológica de sementes.....                                                                                                | 26 |
| 2.7 | Qualidade sanitária.....                                                                                                              | 28 |
| 2.8 | Salinidade.....                                                                                                                       | 30 |
|     | REFERÊNCIAS.....                                                                                                                      | 32 |
|     | Artigo I - Análise cariotípica em diferentes variedades de sementes crioulas de <i>Phaseolus lunatus</i> L. (Phaseole, Fabaceae)..... | 43 |
|     | INTRODUÇÃO.....                                                                                                                       | 45 |
|     | MATERIAL E MÉTODOS.....                                                                                                               | 46 |
|     | RESULTADOS.....                                                                                                                       | 47 |
|     | DISCUSSÃO.....                                                                                                                        | 48 |
|     | CONCLUSÕES.....                                                                                                                       | 50 |
|     | REFERÊNCIAS.....                                                                                                                      | 50 |
|     | Artigo II - Potencial genético em sementes crioulas de <i>Phaseolus lunatus</i> L.....                                                | 60 |
|     | Introdução.....                                                                                                                       | 63 |
|     | Material e Métodos.....                                                                                                               | 64 |
|     | Resultados e Discussão.....                                                                                                           | 67 |
|     | Conclusão.....                                                                                                                        | 76 |
|     | Referências Bibliográficas.....                                                                                                       | 76 |
|     | Artigo III - Qualidade fisiológica de sementes de crioulas de <i>Phaseolus lunatus</i> L.....                                         | 80 |
|     | INTRODUÇÃO.....                                                                                                                       | 82 |
|     | MATERIAL E MÉTODOS.....                                                                                                               | 83 |
|     | RESULTADOS E DISCUSSÃO.....                                                                                                           | 86 |
|     | CONCLUSÕES.....                                                                                                                       | 94 |
|     | REFERÊNCIAS.....                                                                                                                      | 94 |

|                                                                                                                                        |     |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Artigo IV - Germination and vigor of seeds of landraces varieties of <i>Phaseolus lunatus</i> L. submitted to salinity conditions..... | 98  |
| INTRODUÇÃO.....                                                                                                                        | 101 |
| MATERIAL E MÉTODOS.....                                                                                                                | 102 |
| RESULTADOS E DISCUSSÃO.....                                                                                                            | 105 |
| CONCLUSÕES.....                                                                                                                        | 112 |
| AGRADECIMENTOS.....                                                                                                                    | 113 |
| REFERÊNCIAS.....                                                                                                                       | 113 |
| Artigo V - Incidência fúngica em sementes crioulas de <i>Phaseolus Lunatus</i> L.....                                                  | 117 |
| Introdução.....                                                                                                                        | 119 |
| Material e Métodos.....                                                                                                                | 120 |
| Resultados.....                                                                                                                        | 122 |
| Discussão.....                                                                                                                         | 123 |
| Conclusões.....                                                                                                                        | 126 |
| Referências.....                                                                                                                       | 126 |
| CONCLUSÃO GERAL.....                                                                                                                   | 134 |

## 1. INTRODUÇÃO GERAL

No Brasil, o *P. lunatus* é popularmente conhecida por feijão-fava, feijão-de-lima, fava-de-lima, fava-belém, feijão-espadinho, fava-terra, feijão madagascar, feijão de favona, feijoal, feijão-fígado-de-galinha ou feijão-farinha, entretanto na região semárida é mais conhecida como fava (SANTOS et al., 2002; LOPES et al., 2010).

A fava (*Phaseolus lunatus* L.) pertencente ao gênero *Phaseolus*, tem uma ampla distribuição pela América Tropical, com origem e domesticação na América Central e do Sul (ZIMMERMANN e TEIXEIRA, 1996), posterior ao feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.), é considerada a mais importante do gênero. Essa é uma leguminosa mundialmente dispersa, podendo ser encontrada desde o Norte dos Estados Unidos ao Sul do Brasil (GUTIÉRREZ-SALGADO et al., 1995), se caracterizando pela alta, diversidade genética e potencial produtivo, que se adapta as mais diferentes condições ambientais, se desenvolvendo melhor nos trópicos úmidos e quentes (MAQUET et al., 1999).

Em relação ao *P. lunatus*, a diversidade das espécies de *Phaseolus* está organizada em conjuntos gênicos primário, secundário e terciário (BAUDOIN, 2001), cujo conjunto gênico primário contém espécies silvestres e domesticadas (BAUDOIN et al., 2004) e é dividido em dois grupos principais, o Mesoamericano e Andino, e um pequeno grupo contendo genótipos com características intermediárias (CAICEDO et al., 1999; LIOI e GALASSO, 2002). Assim, o estudo de populações relacionadas aos conjuntos gênicos Andino e Mesoamericano da referida espécie é importante para a sua diversidade genética, sendo realizado por vários autores (GUTIÉRREZ-SALGADO et al., 1995; MAQUET et al., 1997; FOFANA et al., 1997; LIOI et al., 1998; LIOI et al., 1999). Entretanto, a dificuldade de localização de germoplasmas silvestres em algumas áreas onde a fava é distribuída tem prejudicado a determinação dos centros de domesticação da espécie (ANDUEZA-NOH et al., 2013).

A ausência de trabalhos que caracterizam o germoplasma disponível constituem os maiores obstáculos para o incremento da produtividade da fava, implicando em alta desuniformidade do material cultivado e, conseqüentemente, colhido (SANTANA, 2010). Os estudos atuais em sua maioria, são realizados com sementes crioulas, ainda assim, atributos sobre a qualidade genética, física, fisiológica e sanitária destas, são escassos na literatura informações importantes, que podem ser utilizadas como

subsídios em programas de melhoramento, em estudos filogenéticos e na conservação da diversidade genética (ADVÍNCULA et al., 2015).

A caracterização fisiológica de uma semente pode ser verificada através de vários testes que seguem normas rígidas para sua avaliação (MENTEN et al., 2006). A avaliação dos atributos fisiológicos, segundo as Regras para Análise de Sementes (RAS), deve ser por testes de germinação e de vigor. O primeiro deve ser conduzido em condições ótimas de ambiente, fornecendo o potencial máximo de germinação e estabelecendo o limite para o desempenho do lote após a sua semeadura, podendo haver discrepância nos resultados com a emergência das plântulas em campo, sendo necessários, portanto, os resultados obtidos nos testes de vigor pela maior sensibilidade para a diferenciação da qualidade (BRASIL, 2009).

As técnicas empregadas, para caracteres fisiológicos, físicos ou genético expressos tanto por dados quantitativos quanto qualitativos, têm facilitado estudos sobre a diversidade de diferentes grupos de organismos, como também gerado informações importantes para o melhoramento, manutenção dos recursos genéticos vegetais (BENIN et al., 2002; RIBEIRO et al., 2005) e identificação de microrganismos (SILVA et al., 2007; FREITAS et al., 2007). Os estudos relacionados a divergência genética, são comumente realizados através de técnicas multivariadas por meio da avaliação simultânea de vários caracteres, os quais permitem inferências a partir do conjunto de dados existentes (CRUZ et al., 2004).

Diante do exposto o objetivo foi quantificar a diversidade genética, bem como avaliar a qualidade física, fisiológica e sanitária de sementes crioulas de *P. lunatus* provenientes dos estados da Paraíba e Pernambuco.

## **2. REFERENCIAL TEÓRICO**

### **2.1. Sementes crioulas**

As sementes constituem o patrimônio genético e cultural, podendo ser separadas em dois grupos: as produzidas industrialmente e as tradicionais, também chamadas crioulas (que não foram submetidas a nenhum tipo de melhoramento genético) que são produzidas e adaptadas as condições de suas respectivas regiões as quais estão inseridas, pela agricultura familiar (MDA, 2020). Atualmente a conservação das sementes crioulas pelos agricultores tradicionais tem sido um processo importante para manutenção da biodiversidade e de práticas sustentáveis (HEATHERINGTON, 2019).

No Brasil, o emprego de variedades locais tem sido fundamental para determinar a qualidade das sementes de alguns genótipos, em função do local de produção e seu respectivo desempenho durante o armazenamento, visando o resgate das mesmas para futuros cultivos (MICHELS et al., 2014).

Os tipos de sementes crioulas comercializadas têm grande variabilidade, que podem ser diferenciadas quanto à cor do tegumento e ao tamanho, com várias denominações locais e regionais (BARREIRO NETO et al., 2015). Características, que podem ser utilizadas como critérios para explicar a origem e a diversidade genética da espécie (VARGAS et al., 2003). Estudos com sementes de fava demonstraram semelhanças morfológicas, no entanto, outros trabalhos constataram que há uma heterogeneidade entre as variedades devido as diversas formas em que as mesmas vêm demonstrando (ADVÍNCULA et al., 2015).

A diversidade genética, é uma das principais características das sementes crioulas, uma vez que o manejo das distintas variedades de cada espécie cultivada constitui uma importante estratégia para os agricultores familiares, principalmente aqueles que ocupam regiões com instabilidade climática (LONDRES, 2014).

Em várias regiões do país, especialmente no Nordeste, atividades com sementes crioulas, conhecidas como sementes da paixão, vem sendo desenvolvidas, as quais são valorizadas e fortalecidas pelos agricultores, tendo um papel importante na vida econômica e política das comunidades (ARAÚJO et al., 2013; PETERSEN et al., 2013). Estudos com genótipos crioulos têm enfatizado a territorialidade de produção, bem como de uso de sementes e grãos dentro de cada estado que estejam inseridos (MICHELS et al., 2014).

No Brasil, o Estado da Paraíba foi pioneiro na criação da lei estadual sobre bancos de sementes comunitários, a qual determina que o governo estadual deve garantir recursos para o resgate e a multiplicação de sementes de variedades locais, tanto para o abastecimento do Programa Estadual criado pela própria lei, como para Bancos de Sementes de Comunidades (BSCs) existentes no estado e gerenciados pela sociedade civil (LONDRES, 2014). O armazenamento das sementes crioulas de forma correta e íntegra é essencial para a manutenção dos bancos, atualmente este é realizado de forma artesanal e simplificada, “a escolha das melhores sementes é realizada manualmente, em seguida são colocadas em garrafas de polietileno tereftalato (PET) juntamente com produtos naturais como pimenta do reino, pedaços de casca de laranja, alho, entre outros para evitar a proliferação de fungos e insetos” (CHICO GALDINO, presidente do BSCs no sítio Massapê, 2018). Algumas pesquisas têm demonstrado que o uso dessas técnicas tradicionais de armazenamento de sementes sem a utilização de agrotóxicos estão sendo cada vez mais validadas (LONDRES, 2014).

## 2.2. Caracterização da espécie

Pela classificação de Cronquist (1988), o gênero *Phaseolus* pertence a subclasse Rosidae, ordem Fabales e família Fabaceae, essa família é uma das maiores entre as dicotiledôneas, com 643 gêneros e 18.000 espécies distribuídas por todo o mundo, especialmente nas regiões tropicais e subtropicais (BROUGHTON et al., 2003). Quanto ao número exato de espécies classificadas no gênero *Phaseolus*, na literatura há controvérsias de informações, uma vez que em revisões de gênero, Silva et al. (2003) relataram que esse número pode variar de 31 a 52 espécies, todas originárias do Continente Americano, sendo que apenas cinco são cultivadas: *P. vulgaris* L. (feijão comum), *P. lunatus* L. (feijão-fava), *P. coccineus* L. (feijão-ayocote), *P. acutifolius* A. Gray (feijão-tepari) e Greeman (feijão de toda uma vida) (ZIMMERMANN e TEIXEIRA, 1996; DEBOUCK, 1999).

As espécies do gênero *Phaseolus* estão entre as plantas cultivadas mais antigas do novo mundo, cujo cultivo é realizado em sistemas de monocultura, em consorciação com outras culturas ou em rotação de culturas em regiões de média e baixa altitudes das Américas, encontradas em até 3.000 metros de altitude (ANDRADE, 2018).

*P. lunatus* é uma espécie plurianual, seu hábito de crescimento geralmente é trepador, com o desenvolvimento da gema terminal em uma guia, ou determinado anão,

com desenvolvimento completo da gema terminal em uma inflorescência (BEYRA e ARTILES, 2004). Possui um sistema misto de cruzamento, sendo considerada predominantemente autógama (SERRANO-SERRANO et al., 2010) com taxa de cruzamento variando de 2 a 10% (HARDY et al., 1997; ZORO BI et al., 2003).

Nas sementes de *P. lunatus* há uma ampla variação na coloração e tamanho que podem ser utilizadas como critérios para explicar a origem e a diversidade genética da espécie (VARGAS et al., 2003), com presença de linhas que se irradiam do hilo para a região dorsal das sementes para a maioria dos genótipos sendo uma característica marcante que distingue a fava de outros feijões (VIEIRA, 1992). Com a germinação classificada como epígea, com folhas trifoliadas geralmente de coloração escura, mais persistente que em outras espécies do gênero, mesmo depois do amadurecimento das vagens; bractéolas pequenas e pontiagudas; vagens bastante compridas e de forma geralmente oblonga e recurvada, com duas alturas distintas (ventral e dorsal) e número de sementes por vagem variando de duas a quatro (SANTOS et al., 2002).

A partir da diversidade das sementes crioulas de fava, ocorre uma riqueza gerada através de conhecimentos para as mais variadas estratégias de utilização e manejo, tais como hábitos de alimentares, estocagens de grão/sementes e forragens e outras habilidades, que resultam num material de ampla adaptação nos diversos ambientes (SANTOS et al., 2019).

### **2.3. Importância econômica**

A fava é a segunda espécie mais importante economicamente do gênero e cultivada mundialmente (CHACÓN-SÁNCHEZ e MARTÍNEZ-CASTILLO, 2017), devido, a sua relevância na agricultura de subsistência em ambientes tropicais úmidos da América, por ser considerada fonte de nutrientes para populações rurais na América do Sul e África (SILVA et al., 2015) proporcionar amplas oportunidades para o desenvolvimento de pequenos e médios produtores agrícolas.

A fava é alternativa sustentável na produção de alimentos para ser inserida no âmbito social, econômico e cultural, uma vez que é parte das fontes de proteína, carboidratos, ferro, cálcio, fibra da dieta básica humana, destacando-se como uma alternativa na produção de alimentos fisiologicamente funcionais, com propriedades anti hipertensivas (SANTOS et al., 2009; CHEL-GUERRERO et al., 2012; MOSES et al., 2012; MARTÍNEZ-CASTILLO, 2015; SEIDU et al., 2015).

Mundialmente os Estados Unidos da América possui relevância na produção de fava, devido a sua alta capacidade produtiva, ao desenvolvimento de variedades adaptadas, de porte ereto, ciclo curto e resistência a doenças e investimentos pesquisas práticas de manejo e uso intensivo de tecnologias (LONG et al., 2014; USDA-NASS, 2016). Outro país que possui relevância em termos produtivos da espécie, é o Peru, especificamente na região de Ica uma variedade de fava de sementes grandes e brancas, com baixa quantidade de ácido cianídrico, conhecida como “pallar”, é cultivada para exportação (VIGIL, 2009).

No Brasil, a fava é cultivada em quase todo território nacional, a qual tem relativa importância econômica especialmente na região Nordeste (MEDEIROS et al., 2015) entre os dez estados com maior produção, oito são Nordestinos, a saber: Ceará (4.614 t), Paraíba (2.910 t), Rio Grande do Norte (1.274 t), Piauí (985 t), Pernambuco (672 t), Alagoas (431 t), Maranhão (347 t) e Sergipe (148 t), constando das outras regiões apenas Minas Gerais (48 t) e Rio Grande do Sul (20 t) (IBGE, 2020).

Na região Nordeste do Brasil, o germoplasma utilizado pelos produtores é originário de suas próprias colheitas e comercialização entre comunidades rurais, que é cultivado há muito tempo, consideradas variedades crioulas, utilizadas principalmente as de crescimento indeterminado (CARMO et al., 2015; SILVA et al., 2015), uma vez que não há variedades melhoradas geneticamente. Nacionalmente a produção é limitada, principalmente devido a escassez de trabalhos sobre, variabilidade genética disponível, a viabilidade polínica da espécie, ideótipo para cada região produtora, uniformidade produtiva (NASCIMENTO e FERREIRA 2017).

Estudos com espécies cultivadas são importantes porque sugerem que o crescimento em produção não será suficiente para satisfazer o crescimento previsto em demanda (RAY et al., 2012, 2013; HENRY, 2014), principalmente devido as mudanças climáticas e instabilidade ambiental, sendo necessário o desenvolvimento de genótipos adaptados (KHANALA e MISHRA, 2017).

## **2.4. Citogenética**

Estudos citogenéticos fornecem contribuições valiosas para a resolução de problemas taxonômicos e evolutivos, auxiliando no conhecimento da origem e adaptação de diferentes grupos vegetais, uma vez que as características cariotípicas de número, tamanho, morfologia, distribuição de heterocromatina e sítios de DNAr nos cromossomos podem corresponder à guias das afinidades filogenéticas e indicadores de

classificações sistemáticas (SINGH, 2003; GUERRA, 2012). Esses estudos, auxiliam realizar valiosas contribuições ao conhecimento de mecanismos de isolamento reprodutivo e modos de especiação em plantas (POGGIO et al., 2008).

De forma similar, os estudos cromossômicos são importantes para analisar a presença de zonas híbridas para detectar a formação de novas subespécies por introgressão e conhecer o impacto da hibridação natural na formação de complexos híbridos homoplóides e/ou poliplóides (GRANT, 1985). As características citogenéticas como número e morfologia cromossômica permitem definir os padrões na estrutura genética em espécies ou até mesmo em populações (THIRIOT-QUIÉVREUX e CUZIN-ROUDY, 1995). Nesse sentido, o estudo do cariótipo é capaz de reunir espécies com grau de parentesco em um número menor de táxons, uma vez que em uma análise diversificada ao nível intra-específico, o qual reúne todos os indivíduos capazes de reformular as bases genômicas comum de um grupo, permite a avaliação de um grau de parentesco pela similaridade entre os indivíduos, análise de híbridos e variabilidade dentro de uma espécie ou táxon (GUERRA, 1988).

O conhecimento da organização genômica e cromossômica de plantas cultivadas exige um elevado empenho, mas, tem sido bastante utilizada em programas de melhoramento genético, possibilitando o desenvolvimento de variedades, como, melancias triploides sem sementes (SOUZA et al., 1999), plantas ornamentais poliploides com flores maiores e mais vistosas (WITTMANN e DALL'AGNOL, 2003), e variedades resistentes a determinados patógenos (BEJARANO-MENDOZA et al., 2001).

No ano de 1925, Karpetschenko fez o primeiro relato sobre contagem cromossômica no gênero *Phaseolus*, cujas espécies *P. acutifolius* A. Gray, *P. coccineus* L., *P. lunatus* e *P. vulgaris* possuíam  $2n = 22$  cromossomos (MERCADO-RUARO e DELGADO-SALINAS, 2000). Depois desse relato surgiram outros estudos enfatizando o número cromossômico em espécies pertencentes a esse gênero, em que Lackey (1979), Goldblatt (1981), Mercado-Ruaro e Delgado-Salinas (1998; 2000) avaliando cerca de 31 espécies do do gênero *Phaseolus*, afirmaram que o número cromossômico básico estabilizado e predominante é  $n = x = 11$  podendo ser encontrado  $n = x = 10$  em três espécies distintas (*P. leptostachyus* Benth., *P. micranthus* Hook. & Arn., e *P. macvaughii* A. Delgado). Em exemplares de *Phaseolus semirectus* L. também constatou-se  $n = 11$  cromossomos (TURNER, 1956).

As pesquisas referentes à contagem de cromossomos no gênero *Phaseolus* (LACKEY, 1979; GOLDBLATT, 1981; ZENG et al., 1991; MERCADO-RUARO e DELGADO-SALINAS, 1998; FERREIRA, 2008) concluíram que, os cromossomos são pequenos ( $\approx 2\mu\text{m}$ ), predominantemente metacêntricos (embora de difícil localização do centrômero), e com  $2n = 22$ , embora raramente possa ocorrer  $2n = 20$  (ZIMMERMANN e TEIXEIRA, 1996; MOSCONE et al., 1999). Algumas das análises citogenéticas realizadas indicaram que há predominância de cromossomos submetacêntricos e metacêntricos, sendo que em cariótipos de *Phaseolus* pode haver diminuição do conteúdo de cromatina dando origem a um cariótipo assimétrico (MERCADO-RUARO e DELGADO-SALINAS, 2000). No entanto, cromossomos subtelocêntricos são incomuns neste gênero, mas foram reportados por Zeng et al. (1991) em *P. vulgaris*. Nesta mesma espécie são propostas as seguintes fórmulas cariotípicas em relação à morfologia dos cromossomos ( $n = 11$ ): 3 pares de cromossomos Metacêntricos + 7 Submetacêntricos + 1 Subtelocêntrico;  $6M + 5SB$ ;  $5M + 5SB + 1ST$ ;  $4M + 6SB + 1ST$ ;  $8M + 3SB$ ;  $10M + 1SB$ ;  $9M + 2SB$  (FERREIRA, 2008).

## 2.5. Diversidade genética da espécie

A fava mesmo tendo uma ampla rusticidade, o seu cultivo tem sido limitado uma das razões para este motivo, está na maior tradição do consumo de feijões comum (*Phaseolus vulgaris* L.), caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) e pelo seu sabor amargo, que é conferido pela presença de toxinas (HCN) (LEMOS et al., 2004; GUIMARÃES et al., 2007).

Estudo com a diversidade genética da fava em várias regiões do país, têm revelado um número elevado de variedades locais e variações morfológicas de sementes, sugerindo que a diversidade genética pode ser tão alta quanto à relatada para a Península de Yucatán, considerada um centro de diversidade genética para esta cultura (PENHA et al., 2017). Espécies de fava têm evoluído das formas silvestres e no decorrer desse processo, mudanças marcantes, principalmente morfológicas vêm afetando as partes vegetativas e reprodutivas da planta (GUIMARÃES, 2005; ADVÍNCULA et al., 2015). As sementes das variedades crioulas comercializadas também possuem, grande variabilidade, que podem ser diferenciadas quanto ao seu tamanho e cor do tegumento, com várias denominações locais e regionais (BARREIRO NETO et al., 2015). Em estudo com amostras de sementes de fava constatou-se que os

caracteres comprimento da vagem e número de floração são os mais que contribuem para a divergência entre as amostras avaliadas (SILVA, 2011).

Os recursos genéticos representam matéria-prima para obtenção de variedades mais produtivas, tolerantes a pragas e doenças por terem capacidade de se adaptarem às suas regiões de cultivo, sendo de grande importância para o melhoramento genético das espécies de interesse agrícola (BRONDANI e BRONDANI, 2004). Segundo Moraes et al. (2017), catalogar e estudar a divergência desta espécie é o primeiro passo para à formação de bancos de germoplasma nas diferentes instituições, para reintrodução de variedades cultivadas que foram perdidas pelas comunidades tradicionais.

Os principais locais de conservação da diversidade genética de *P. lunatus* são os bancos de germoplasma que estão situados nos Estados Unidos (Departamento de Agricultura dos Estados Unidos - USDA), México (Instituto Nacional de Pesquisa Florestal, Agrícola e Pecuária-INIFAP) e Colômbia (Centro Internacional de Agricultura Tropical - CIAT) (CAMARENA, 2005).

No Brasil, alguns centros de pesquisas têm conservado amostras de fava, a exemplo do Centro Nacional de Pesquisa de Arroz e Feijão (CNPAP) (GUIMARÃES, 2005) e o Centro Nacional de Recursos Genéticos (EMBRAPA-CENARGEN) pertencentes a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) e a Universidade Federal de Viçosa (VIEIRA, 1992). No Nordeste, a implantação do Banco Ativo de Germoplasma (BAG) de fava na Universidade Federal do Piauí (UFPI), ocorreu no ano de 2005, com a incorporação de 211 acessos de fava procedentes dos estados do Piauí, Maranhão, Pernambuco e Bahia, por meio de aquisição de genótipos locais em comunidades agrícolas, feiras e mercados (LOPES et al., 2010). Estudos com 24 acessos de fava do Banco Ativo de Germoplasma da UFPI demonstraram que há diversidade genética de características quantitativas e qualitativas (SILVA et al., 2015).

A observação da divergência genética e as relações genéticas para estudos dos caracteres relacionados à qualidade fisiológica é uma forma de dar suporte as estratégias de seleção para melhoria da qualidade física, fisiológica e sanitária das sementes (CARDOSO et al., 2009). Estudos sobre diversidade realizados dentro de acessos de uma mesma cultura trazem consigo inúmeras vantagens, como a possibilidade de identificação de materiais genéticos bastantes próximos ou duplicatas (DIEGUES, 2014), a caracterização de acessos conservados nos bancos de germoplasma ou dos que são introduzidos após uma atividade de colheita, permite conhecer as características disponíveis no germoplasma das espécies que serão conservadas. Visando avaliar a

variabilidade genética existente, seja entre acessos de um banco de germoplasma, como em populações naturais ou em plantações comerciais (GONÇALVES et al., 2019). Para programas de melhoramento, a identificação de genótipos contrastantes permite a exploração da heterose ou vigor híbrido resultante da hibridização entre eles (GRIGOLO et al., 2018), sendo possível quantificar a variabilidade genética existente, bem como, avaliar se um grupo de genótipos de uma espécie em um dado local está sofrendo erosão (SILVA et al, 2019).

## **2.6. Qualidade fisiológica de sementes**

No Brasil não há uniformidade genética entre as variedades crioulas exigida pelo Registro Nacional de Cultivares (RNC), por conta disso não têm acesso aos benefícios das leis de produção e comercialização de sementes (Lei 10.711/03 e Lei 9.456/97). Por isso, o Ministério de Desenvolvimento Agrário através da Portaria nº 58, de 18 de julho de 2006, criou um regulamento para cadastro de sementes crioulas com as suas especificidades e padrões (MDA, 2020), possibilitando a exploração do potencial genético e econômico das variedades, desde que sejam realizados ensaios de avaliação em diferentes ambientes, para os quais as variedades se destinam.

As sementes de fava não estão classificadas para comercialização de acordo com a legislação vigente, utilizando-se como base as categorias de *P. vulgaris* em que a germinação mínima é de 70% para sementes básicas e de 80% para as certificadas (C1 e C2), sendo também utilizadas aquelas não certificadas de primeira (S1) e segunda (S2) geração (BRASIL, 2005).

A produção da fava é predominantemente advinda da agricultura familiar, sendo considerada baixa, devido às técnicas e equipamentos utilizados no seu cultivo serem rudimentares, limitando assim o aumento da produtividade (SANTOS et al., 2002). A procedência e a qualidade das sementes são indispensáveis para os agricultores (CAMPOS et al., 2016) porque são insumos de importância elevada quando se busca alta produtividade (FRANÇA NETO et al., 2010). Para serem consideradas de alta qualidade, as sementes devem conter boas características sanitárias, físicas, genéticas e fisiológicas (CAMPOS et al., 2016), fatores imprescindíveis para que as plantas se desenvolvam normalmente e possam produzir com qualidade (ZUCARELI et al., 2015).

Para a obtenção de sementes de boa qualidade, a colheita deve ser realizada, preferencialmente, logo após as mesmas alcançarem a maturidade fisiológica, tendo como referência as modificações morfológicas, fisiológicas e funcionais, que têm seu

ápice com o ponto máximo de massa seca (CHICATI et al., 2018). Estudos sobre a qualidade fisiológica e produção das sementes de fava ainda são importantes, a exemplo do estudo com as variedades Marronzinha, Leite e Anduzinha, comercializadas na feira livre de Montes Claros, Minas Gerais, demonstraram elevada qualidade fisiológica (ADVÍNCULA et al., 2015).

A qualidade fisiológica desempenha um papel importante porque demonstra a capacidade das funções essenciais das sementes, a exemplo da germinação, vigor e longevidade, em que aquelas com maior potencial fisiológico destacam-se pela melhor mobilização das suas reservas energéticas dos cotilédones ou endospermas, para o eixo embrionário, proporcionando germinação rápida e desenvolvimento uniforme em condições de campo (MARCOS-FILHO, 2015).

Um dos métodos para avaliar o nível de qualidade das sementes é o teste de germinação, por isso o conhecimento das condições adequadas para realização deste é fundamental, principalmente devido às respostas diferenciadas por conta de fatores como dormência, água, luz, temperatura, oxigênio, estresses e agentes patogênicos (DOUSSEAU et al., 2011; BEWLEY et al., 2013). A baixa percentagem de germinação, maior susceptibilidade de sementes e mudas com lento crescimento e desenvolvimento radicular menor são características que estão associadas às sementes que possuem baixo potencial fisiológico (NAKAO et al., 2018).

O alto vigor das sementes proporciona de maneira rápida e uniforme, a germinação e emergência das plântulas, tendo como resultado uma produção de plantas com desempenho e potencial produtivo elevado (FRANÇA NETO et al., 2016). As sementes mais vigorosas originam plântulas com maiores taxas de desenvolvimento e ganho de massa, devido a maior capacidade de transformação dos tecidos e suprimento das reservas armazenadas, demonstrando-se eficientes na avaliação do vigor das sementes através de testes de comprimento e massa seca de plântulas que podem diferenciar lotes de sementes (AMARO et al., 2015).

Na verificação da viabilidade e do vigor das sementes devem ser utilizados testes rápidos, ágeis e econômicos que proporcionem tomadas de decisão, tornando-se imprescindíveis para a avaliação da qualidade fisiológica de lotes de sementes em programas de produção (DODE et al., 2013). A uniformidade e a velocidade de germinação/emergência das plântulas dependem do vigor das sementes e condições ambientais (COELHO et al., 2019).

Na avaliação do vigor das sementes, o teste de tetrazólio é um dos mais difundidos, o qual se baseia nas atividades das enzimas desidrogenases, particularmente a desidrogenase do ácido málico, a qual reduz o sal 2,3,5 trifenil cloreto de tetrazólio nos tecidos vivos das sementes e os íons de hidrogênio são transportados para o referido sal (DELOUCHE et al., 1976). Um fator importante na realização desse teste é a escolha da concentração do tetrazólio, bem como o tempo de incubação das sementes para facilitar a diferenciação das mesmas em viáveis e inviáveis (KRZYZANOSWSKI e FRANÇA NETO, 2001).

O teste de tetrazólio foi eficiente na avaliação da viabilidade e vigor das sementes de feijão-caupi utilizando-se pré-condicionamento de imersão direta em água por 16 horas, a 25 °C, com concentração de 0,05% por 210 minutos, na temperatura de 40 °C (RODRIGUES et al., 2015). Estudo com as variedades de fava Roxinha, Rosinha, Branca e Orelha de Vó, demonstrou maior porcentagem de tecidos viáveis quando submetidas ao sal de tetrazólio com concentração de 0,25% por três horas de imersão em água em temperatura de 40 °C (NASCIMENTO et al., 2019).

O teste de condutividade elétrica que é outro teste bioquímico para avaliar o vigor das sementes, envolve a capacidade de estimar a passagem de corrente elétrica através da solução de embebição (BEWLEY e BLACK, 1994). Neste caso, destaca-se a avaliação indireta do potencial das sementes, baseado nas alterações moleculares associadas ao processo de deterioração (MARCOS-FILHO, 2015). Dessa forma, a qualidade fisiológica das sementes é determinada de forma rápida e eficiente uma vez que o aumento na quantidade de lixiviados na água de embebição é proporcional ao nível de deterioração das mesmas (TORRES et al., 2015; AZEREDO et al., 2016).

O teste de condutividade elétrica em sementes e cotilédones de *P. vulgaris* permitiu a separação de lotes em níveis de vigor (SILVA et al., 2014) e também demonstrou ser um teste rápido para avaliar o vigor das sementes de feijão-caupi cv Novera (ARAUJO NETO et al., 2014). Para avaliar o vigor, o teste de condutividade elétrica não é indicado para as sementes de variedades de fava Roxinha, Rosinha, Branca e Orelha de Vó (NASCIMENTO et al., 2019).

## 2.7. Qualidade sanitária

A semente é considerada um dos meios mais eficientes na disseminação e transmissão de patógenos às plantas, possibilitando sua introdução em áreas de cultivo (ZENI e MACIEL, 2018). A ocorrência destes está relacionada ao local de cultivo das

plantas, das tecnologias utilizadas no decorrer do ciclo da cultura, das condições climáticas, do controle químico e da resistência varietal do genótipo cultivado (ZAMBIAZZI et al., 2017).

Os danos causados em decorrência da associação de patógenos com as sementes têm provocado a redução da sua qualidade, podendo acarretar a dispersão de raças mais agressivas e transmissão de patógenos nos primeiros estágios de desenvolvimento da planta (RANI et al., 2013). Além de provocar a morte em pré-emergência, podridão radicular, tombamento de plântulas, manchas necróticas em folhas e caules; deformações como hipertrofias e subdesenvolvimento (FANTINEL et al., 2017).

A umidade das sementes é um dos fatores que mais contribui para a proliferação de patógenos, causando danos diretos e servindo como porta de entrada para diversos fungos e microrganismos, reduzindo o potencial das sementes podendo causar a morte do embrião (ALI et al., 2014). Estudos com genótipos de feijoeiros demonstraram uma alta adaptabilidade e suscetibilidade à doença, com baixa estabilidade na safra, devido às águas de inverno, propiciando condições favoráveis ao surgimento de patógenos (AZEVEDO et al., 2015).

No Brasil, os problemas fitossanitários causados pela transmissão de patógenos através das sementes são responsáveis pela queda da produção agrícola de *P. lunatus*, resultando em insucessos constantes para a cultura, causando sérios prejuízos para os agricultores (CARVALHO et al., 2010). A deterioração de sementes de *P. lunatus* está associada a maior incidência de *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp., *Curvularia* sp. e *Monilinia* sp. (MOTA et al., 2017).

A obtenção de sementes sem padrão fitossanitário é um risco para o agricultor, neste aspecto, pesquisas são fundamentais para fornecer informações sobre a qualidade sanitária das sementes crioulas produzidas e comercializadas (ALTOÉ et al., 2018), por isso são necessários novos materiais com garantia de qualidade, livres de patógenos (BARREIRO NETO et al., 2015).

Neste cenário, é de fundamental importância o controle das doenças, redução dos custos de produção e o aumento da produtividade, fazendo-se necessário conhecer os fungos, que são os principais microrganismos associados às sementes, os quais se propagam de formas variadas, desde esporos até estruturas de resistência, micélio e outras estruturas específicas (NEERGAARD, 1979).

Os gêneros *Aspergillus* sp. e *Rhizopus* sp. ocorrem tipicamente em ambientes de armazenamento, podendo contaminar as sementes logo após a colheita (MACHADO, 2012) causando o apodrecimento, à deficiência na formação do estande, em especial se as sementes permanecerem por um tempo prolongado no solo após a semeadura, em condições ambientais desfavoráveis para o início do processo germinativo, circunstâncias que favorecem o desenvolvimento dos patógenos infectantes ocasionando a morte das sementes antes mesmo da germinação (PAIVA et al., 2016).

## 2.8. Salinidade

A salinidade é um dos fatores que pode limitar a maximização da sustentabilidade agrícola (ASSIMAKOPOULOU et al., 2015), uma vez que no processo de germinação a água é o fator decisivo por controlar a reidratação dos tecidos com posterior intensificação da respiração, atividades metabólicas e translocativas, necessárias ao fornecimento de energia e nutrientes para a retomada do crescimento do eixo embrionário (EHRHARDT-BROCARD e COELHO, 2016).

A maioria das glicófitas, não pode se desenvolver na presença de altos níveis de sal, onde o crescimento é inibido ou mesmo completamente vedado por concentrações de NaCl de 100-200 mM, resultando em morte de plantas (ACOSTA-MOTOS et al., 2017). O efeito do estresse na qualidade e rendimento das sementes depende de muitos fatores como a severidade, duração, estágio de desenvolvimento da planta ou da semente, no decorrer do estresse (SANTOS, 2014). Um dos fatores que afeta a germinação das sementes, crescimento e desenvolvimento das plantas, bem como a produção quantitativa e qualitativa das culturas é a salinidade no substrato (PAIVA, 2014).

Mecanismos de tolerância à salinidade são complexos e dependem das alterações fisiológicas e anatômicas que ocorrem na planta por inteiro, e não só em uma única célula, o feijão caupi por exemplo cultivado no nordeste brasileiro em condições de irrigação como de lavoura seca, é considerado moderadamente tolerante ao sal, no entanto os mecanismos fisiológicos responsáveis por essa tolerância ou sensibilidade ainda não estão bem esclarecidos (SOUSA et al., 2003). Em trabalhos com feijão-caupi o aumento da salinidade diminuiu a percentagem de emergência das plântulas, conforme o aumento das concentrações, por conseguinte houve redução na velocidade de emergência (CHAGAS et al., 2018).

Em estudos com sementes de *P. vulgaris* verificou-se que a germinação foi máxima nos potenciais de -0,35 e -0,36 MPa, quando utilizaram cloreto de magnésio ( $\text{MgCl}_2$ ) e de cálcio ( $\text{CaCl}_2$ ), respectivamente, como solutos (COELHO et al., 2010). Em sementes de *P. vulgaris* quando submetidas ao efeito de cinco níveis de cloreto de sódio ( $\text{NaCl}$ ) constatou-se redução na sua germinação e também houve atraso no início do processo germinativo (MENA et al., 2015).

A espécie *Vicia faba* L. também é considerada sensível ao sal, uma vez que o aumento no nível de salinidade na água de irrigação pelo  $\text{NaCl}$  0,0125 a 1% reduziu a massa fresca média, o diâmetro e o comprimento da vagem, bem como o número de sementes por vagem e o peso médio das sementes frescas, entretanto aumentou a percentagem de matéria seca nas vagens (NTATSI et al., 2018). Quando sementes de variedades de *P. lunatus* foram submetidas a concentrações de até 9 dS  $\text{m}^{-1}$  de  $\text{NaCl}$  verificou-se elevada percentagem de germinação, no entanto o vigor foi reduzido (NASCIMENTO et al., 2017). Espécies cultivadas de Fabaceae, como o feijão são suscetíveis a esse tipo de estresse abiótico nas fases iniciais da germinação, o que contribui na diminuição da atividade amilolítica nas sementes (MORAIS et al., 2018).

### 3. REFERÊNCIAS

- ACOSTA-MOTOS, J. R.; ORTUÑO, M. F.; BERNAL-VICENTE, A.; DIAZ-VIVANCOS, P.; SANCHEZ-BLANCO, M. J.; HERNANDEZ, J. A. Plant responses to salt stress: adaptive mechanisms. **Agronomy**, v.7, n.18, p.1-38, 2017.
- ADVÍNCULA, T. L.; NADAI, F. B.; NOBRE, D. A. C.; FERREIRA, É. N. M.; BRANDÃO JÚNIOR, D. S.; COSTA, C. A. Qualidade física e fisiológica de sementes de *Phaseolus lunatus* L. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v.10, n.3, p.341-346, 2015.
- ALI, M. R.; RAHMAN, M. M.; AHAMMAD, K. U. Effect of relative humidity, initial moisture content and storage container on soybean (*Glycine max* L. Meril.) seed quality. **Bangladesh Journal of Agricultural Research**, v.39, n.3, p.461-469, 2014.
- AMARO, H. T. R.; DAVID, A. M. S. S.; ASSIS, M. O.; RODRIGUES, B. R. A.; CANGUSSÚ, L. V. S.; OLIVEIRA, M. B. Testes de vigor para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de feijoeiro. **Revista de Ciências Agrárias**, v.38, n.3, p.383-389, 2015.
- ANDRADE, T. E. G. **Caracterização citogenética e predição de cruzamentos intraespecíficos em acessos superiores de *Phaseolus lunatus* L.** 2018. 71f. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento) - Universidade Federal do Piauí, Teresina, 2018.
- ANDUEZA-NOH, R. H.; SERRANO-SERRANO, M. L.; CHACÓN SÁNCHEZ, M. I.; SANCHÉZ DEL PINO, I.; CAMACHO-PÉREZ, L.; COELLO-COELLO, J.; MIJANGOS CORTES, J.; DEBOUCK, D. G.; MARTÍNEZ-CASTILLO, J. Multiple domestications of the Mesoamerican gene pool of lima bean (*Phaseolus lunatus* L.): evidence from chloroplast DNA sequences. **Genetic Resources and Crop Evolution**. v.60, n.3, p.1069-1086, 2013.
- ARAÚJO NETO, A. C.; NUNES, R. T. C.; ROCHA, P. A.; ÁVILA, J. S.; MORAIS, O. M. Germinação e vigor de sementes de feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) de diferentes tamanhos. **Revista Verde**, v.9, n.2, p.71-75, 2014.
- ARAÚJO, S. L.; MORAIS, R. C.; ROGÉRIA MORAIS, R.; NUNES, F. R.; COSTA, C.; SANTOS, A. S. Guardiões e guardiãs da agrobiodiversidade nas regiões do Cariri, Curimataú e Seridó paraibano. **Cadernos de Agroecologia**, v.8, n.2, p.1-5, 2013.
- ASSIMAKOPOULOU, A.; SALMAS I.; NIFAKOS, K.; ASSIMAKOPOULOU, P. Effect of salt stress on three green bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivars. **Notulae Botanica e Horti Agrobotanici**, v.43, n.1, p.113-118, 2015.
- ALTOÉ, L. M.; SOUZA, A. F.; LAMBERT, J. C.; DALEPRANE, F. B. MEIRELES, R. C.; RIOS, J. S. Qualidade sanitária de sementes de feijão produzidas por agricultores familiares no Espírito Santo. **Cadernos de Agroecologia** - ISSN 2236-7934 - Anais do VI CLAA, X CBA e V SEMDF - v. 13, n. 1, p.1-7, 2018.

AZEREDO, G. A.; PAULA, R. C. P.; VALERI, S. V. Electrical conductivity in *Piptadenia moniliformis* Benth. seed lots classified by size and color. **Revista Árvore**, v.40, n.5, p.855-866, 2016.

AZEVEDO, C. V. G.; RIBEIRO, T.; SILVA, D. A.; CARBONELL, S. A. M.; CHIORATO, A. F. Adaptabilidade, estabilidade e resistência a patógenos em genótipos de feijoeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.50, n.10, p.912-922, 2015.

BARREIRO NETO, M.; FAGUNDES, R. A. A.; BARBOSA, M. M.; ARRIEL, N. H. C.; FRANCO, C. F. O.; SANTOS, J. F. Características morfológicas e produtivas em acessos de feijão-fava consorciados. **Tecnologia & Ciência Agropecuária**, v.9, n.3, p.23-27, 2015.

BAUDOIN, J. P. Contribution des ressources phytogénétiques à la sélection variétale de légumineuses alimentaires tropicales. **Biotechnology, Agronomy, Society and Environment**, v.5, n.4, p.221-230, 2001.

BAUDOIN, J. P.; ROCHA, O.; DEGREEF J.; MAQUET, A.; GUARINO, L. **Ecogeography, demography, diversity and conservation of *Phaseolus lunatus* L in the Central Valley of Costa Rica**. Systematic and Ecogeographic Studies on Crop Genepools 12. International Plant Genetic Resources Institute: Rome, Italy. 2004. 84p.

BEJARANO-MENDOZA, C. E.; ZAPATA, M.; BOSQUES, A.; RIVERA-AMADOR, E. Different levels of ploidy as a strategy for control of dry root rot in tanager (*Xanthosoma* spp.). **The Journal of Agriculture of the University of Puerto Rico**, v.85, n.1-2, p.69-82, 2001.

BENIN, G.; CARVALHO, F. I. F.; ASSMANN, I. C.; CIGOLINI, J.; CRUZ, P. J.; MARCHIORO, V. S.; LORENCETTI, C.; SILVA, J. A. G. Identificação da dissimilaridade genética entre genótipos de feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.) do grupo preto. **Revista Brasileira de Agrociência**, v.8, n.3, p.179-184, 2002.

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

BEWLEY, J. D.; BLACK, M. **Seeds: physiology of development and germination**. 2.ed. New York: Plenum Press, 1994. 445p.

BEWLEY, J. D.; BRADFORD, K. J.; HILHORST, H. W. M.; NONOGAKI, H. **Seeds: physiology of development, germination and dormancy**. 3.ed. New York: Springer, 2013. 392p.

BRASIL. 2005. **Padrões para produção e comercialização de sementes de feijão**. Anexo IV da Instrução Normativa nº 25, de 16 de dezembro de 2005. Brasília: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento /ACS.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília: MAPA/ ACS, 2009. 395p.

BROUGHTON, W. J.; HERNÁNDEZ, G.; BLAIR, M.; BEEBE, S.; GEPTS, P.; VANDERLEYDEN, J. Beans (*Phaseolus* spp.) - model food legumes. **Plant and Soil**, v.252, n.1, p.55-128, 2003.

CAICEDO, A.; GAITÁN, E.; DUQUE, M. C.; TORO CHICA, O.; DEBOUCK, D. G.; TOHME, J. AFLP fingerprinting of *Phaseolus lunatus* L. and related wild species from South America. **Crop Science**, v.39, n.5, p.1497-1507, 1999.

CAMARENA, F. **Magnitud e impacto potencial de laliberación de los organismos genéticamente modificados y susproductos comerciales**. Caso: Leguminosas de grano. 2005. p.19-40.

CAMPOS, J. C. D.; MACHADO, V. S.; SILVA, D. D. A.; CAMARGO, F. R. T.; VESPUCCI, I. L.; ROCHA, I. J. F.; ALVES, S. M. F. Determinação do diâmetro do rolo de germinação e do número de sementes para realização do teste de comprimento de plântulas de feijão. In: CONGRESSO DE ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO DA UEG-INOVAÇÃO: INCLUSÃO SOCIAL E DIREITOS, 3, 2016, Anápolis. **Anais...** Anápolis: UEG, 2016.

CARDOSO, D. L.; SILVA, R. F.; PEREIRA, M. G.; VIANA, A. P.; ARAÚJO, E. F. Diversidade genética e parâmetros genéticos relacionados à qualidade fisiológica de sementes em germoplasma de mamoeiro. **Revista Ceres**, v.56, n.5, p.572-579, 2009.

CARMO, M. D. S.; CARVALHO, E. M. S.; GOMES, R. L. F.; LOPES, A. C. A.; CAVALCANTE, G. R. S. Avaliação de acessos de feijão-fava, para resistência a *Colletotrichum truncatum*, em condições de folhas destacadas e campo. **Summa Phytopathologica**, v.41, n.4, p.292-297, 2015.

CARVALHO, E. M. S.; CENTURION, M. A. P. C.; CARVALHO, P. R. S. Doenças. In: LOPES, A. C. A.; GOMES, R. L. F.; ARAÚJO, A. S. F. (Orgs.). **A cultura do feijão-fava no Meio Norte do Brasil**. Teresina: EDUFPI, 2010. p.191-205.

CHACÓN-SÁNCHEZ, M. I.; MARTÍNEZ-CASTILLO, J. Testing domestication scenarios of lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) in Mesoamerica: insights from genome-wide genetic markers. **Frontiers in Plant Science**, v.8, n.1551, p.1-20, 2017.

CHAGAS, C. T. G.; OLIVEIRA, K. S. S.; BARBOSA, J. B.; SILVA, F. P.; DANTAS, T. O.; QUADROS, B. R. Sementes de feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) submetidas a stresse salino. **Revista Cultivando o Saber**, v.11, n.3, p.258-265, 2018.

CHEL-GUERRERO, L.; DOMÍNGUEZ-MAGAÑA, M.; MARTÍNEZ-AYALA, A.; DÁVILA-ORTIZ, G.; BETANCUR-ANCONA, D. Lima bean (*Phaseolus lunatus*) protein hydrolysates with ACE-I inhibitory activity. **Food and Nutrition Sciences**, v.3, n.4, p.511-521, 2012.

CHICATI, M. S.; CHICATI, M. L.; FURLANETTO, R. H.; CORTEZ FREITAS, G. L. S. C. Colheita do feijoeiro: qual é o melhor sistema a ser escolhido? **Revista Campo digit@l**, v.13, n.1, p.27-37, 2018.

COELHO, D. L. M.; AGOSTINI, E. A.T.; GUABERTO, L. M.; MACHADO NETO, N. B.; CUSTÓDIO, C. C. Estresse hídrico com diferentes osmóticos em sementes de feijão e expressão diferencial de proteínas durante a germinação. **Acta Scientiarum Agronomy**, v.32, n.3, p.491-499, 2010.

COELHO, E. B.; SOUZA, J. E. B.; MARTINS, T. A.; SANTOS, D. P. Influência do tamanho da semente na qualidade fisiológica da soja. **Ipê Agronomic Journal**, v.3, n.1, p.71-79, 2019.

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

CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J.; CARNEIRO, P. C. S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. 3.ed. Viçosa: UFV, 2004. 480p.

DEBOUCK, D. G. Diversity in *Phaseolus* species in relation to the common bean. In: SINGH, S. P. (ed.). **Common bean improvement in the twenty-first century**. Dordrecht: Kluwer, 1999. p.25-52.

DELOUCHE, J. C.; WAYNE, T.; RASPET, M.; LIENHARD, M. **O teste de tetrazólio para viabilidade da semente**. Brasília: AGIPLAN, 1976. 103p.

DIEGUES, I. P. **Diversidade genética entre acessos de feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.) mensurada via caracteres morfoagronômicos e marcadores ISSR**. 2014. 61f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2014.

DODE, J. S.; MENEGHELLO, G. E.; TIMMI, F. C.; MORAES, D. M.; PESKE, S. T. Teste de respiração em sementes de soja para avaliação da qualidade fisiológica. **Ciência Rural**, v.43, n.2, p.193-198, 2013.

DOUSSEAU, S.; ALVARENGA, A. A.; ALVES, E.; CHAVES, I. S.; SOUZA, E. S.; ALVES, J. S. Physiological, morphological and biochemical characteristics of the sexual propagation of *Piper aduncum* (Piperaceae). **Brazilian Journal of Botany**, v.34, n.3, p.297-305, 2011.

EHRHARDT-BROCARD, N. C. M.; COELHO, C. M. M. Hydration patterns and physiologic quality of common bean seeds. **Semina: Ciências Agrárias**, v.37, n.4, p.1791-1800, 2016.

FANTINEL, V. S.; OLIVEIRA, L. M.; CASA, R. T.; ROCHA, E. C.; SCHNEIDER, P. F.; POZZAN, M.; LIESCH, P. P.; RIBEIRO, R. A. Fungos associados às sementes de *Acca sellowiana*: efeitos na qualidade fisiológica das sementes e transmissão. **Revista Agrarian**, v.10, n.38, p.328-335, 2017.

FERREIRA, A. G. **Caracterização morfológica, citogenética e palinológica de genótipos de feijão-vagem *Phaseolus vulgaris* L. (Fabaceae)**. 2008. 60f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, 2008.

FOFANA, B.; VEKEMANS, X.; JARDIN, P.; BAUDOIN, J. P. Genetic diversity in lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) as revealed by RAPD markers. **Euphytica**, v.95, n.2, p.157-165, 1997.

FRANÇA NETO, J. B.; KRZYZANOWSKI, F. C.; HENNING, A. A. A importância do uso de sementes de soja de alta qualidade. **Informativo ABRATES**, v.20, n.3, p.37-38, 2010.

FRANÇA NETO, J. B.; KRZYZANOWSKI, F. C.; HENNING, A. A.; PÁDUA, G. P.; LORINI, I.; HENNING, F. A. **Tecnologia da produção de semente de soja de alta qualidade**. 82p. (Documentos/EmbrapaSoja), 2016.

FREITAS, A. D. S.; VIEIRA, C. L.; SANTOS, C. E. R. S.; STAMFORD, N. P.; LYRA, M. C. C. P. Caracterização de rizóbios isolados de Jacatupé cultivado em solo salino do Estado de Pernambuco, Brasil. **Bragantia**, v.66, n.3, p.497-504, 2007.

GOLDBLATT, P. Cytology and the phylogeny of Leguminosae. In: **Advances in legume systematics**. Royal Botanic Garden, 1981. p.55-118.

GONÇALVES, G. M. C.; GONÇALVES, M. M. C.; MEDEIROS, A. M.; LOPES, A. C. A.; GOMES, R. L. F. Genetic dissimilarities between fava bean accessions using morphoagronomic characters. **Revista Caatinga**, v. 32, n. 4, p. 1125 –1132, 2019.

GRANT, V. **The evolutionary process**: a critical review of evolutionary theory. 2.ed. New York: Columbia University Press. 1985. 499p.

GUERRA, M. Cytotaxonomy: the end of childhood. **Plant Biosystems - An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology**, v.46, n.3, p.703-710, 2012.

GUERRA, M. S. **Introdução à citogenética geral**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1988. 42p.

GUIMARÃES, W. N. R. **Caracterização morfológica e molecular de acessos de feijão-lima (*Phaseolus lunatus* L., Fabaceae) da coleção de germoplasma do Departamento de Agronomia da UFRPE**. 2005. 73f. Dissertação (Mestrado em Melhoramento Genético de Plantas) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2005.

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

GUTIÉRREZ-SALGADO, A.; GEPTS, P.; DEBOUCK, D. G. Evidence for two gene pools of the lima bean, *Phaseolus lunatus* L., in the Americas. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v.42, n.1, p.15-28, 1995.

HEATHERINGTON, Tracey. Seeds. Theorizing the contemporary. **Cultural Anthropology Journal**, June 28, 2017. Disponível em: <<https://culanth.org/fieldsights/1161-seeds>> acesso em 30 jun, 2019.

HARDY O.; DUBOIS, S.; ZORO BI, I.; BAUDOIN, J.P. Gene dispersal and its consequences on the genetic structure of wild populations of lima bean (*Phaseolus lunatus*) in Costa Rica. **Plant Genetic Resources Newsletter**, n.109, p.1-6, 1997.

HENRY, R. J.; NEVO, E. Exploring natural selection to guide breeding for agriculture. **Plant Biotechnology Journal**, v.12, n.6, p.655-662, 2014.

IBGE, **Produção agrícola municipal 2019**. Rio de Janeiro: IBGE, 2020. <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/pb/pesquisa/14/10193?tipo=ranking&indicador=10280> > acesso em 18 de out. 2020.

KHANALA, A. R.; MISHRA, A. K. Enhancing food security: food crop portfolio choice in response to climatic risk in India. **Global Food Security**, v.12, p.22-30, 2017.

KRZYZANOSWSKI, F. C.; FRANÇA-NETO, J. B. Vigor de sementes. **Informativo ABRATES**, v.11, n.3, p.81-84, 2001.

LACKEY, J. A. A chromosome atlas of the Phaseoleae (Leguminosae, Papilionoideae). **Iselya**, v.1, n.1, p.87-114, 1979.

LIOI, L.; LOTTI, C.; GALASSO, I. Isozyme diversity, RFLP of the rDNA and phylogenetic affinities among cultivated Lima beans, *Phaseolus lunatus* L. (Fabaceae). **Plant Systematics and Evolution**, v.213, n.3-4, p.153-164, 1998.

LIOI, L.; SPARVOLI, F.; BOLLINI, R. Variation and genomic polymorphism of lectin-related protein in lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) seeds. **Genetic Resources and Crops Evaluation**, v.46, n.2, p.157-182, 1999.

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

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

LONDRES, F. **As sementes da paixão e as políticas de distribuição de sementes na Paraíba**, AS-PTA, Rio de Janeiro, 2014. 83p.

LONG, R.; TEMPLES, S.; MEYER, R.; SCHWANKL, L.; ODFREY, L.; CANEVARI, M.; ROBERTS, P. **Lima bean production in California**. University of California, ANR, 2014. n.8505, 25p.

LOPES, A. S. A.; GOMES, R. L. F.; ARAÚJO, R. L. **A cultura do feijão-fava no Meio Norte do Brasil**. Teresina: EDUFPI, 2010. v.1, p.45-72.

MACHADO, J. C. Patologia de sementes: significado e atribuições. In: CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. (Eds.). **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. Jaboticabal: Funep, 2012. p.524-590.

MAQUET, A.; ZORO BI, I.; DELVAUX, M.; WATHELET, B.; BAUDOIN, J. P. Genetic structure of a lima bean base collection using allozyme markers. **Theoretical and Applied Genetics**, v.95, n.5-6, p.980-991, 1997.

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

MARCOS-FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. 2.ed. Londrina: ABRATES, 2015. 660p.

MDA - Ministério do Desenvolvimento Agrário. **Agricultura Familiar e do Desenvolvimento Agrário (Patrimônio Genético Cultural)**. Disponível em: <<http://www.mda.gov.br/sitemda/noticias/patrim%C3%B4nio-gen%C3%A9tico-e-cultural>> acesso em 03 mar, 2020.

MEDEIROS, V. S. S.; ALMEIDA, L. S.; PAULA, A. C.; MARINI, F. S.; ARRIEL, N. H. C. Caracterização morfoagronômica de fava (*Phaseolus lunatus* L.). **Cadernos de Agroecologia**, v.10, n.3, p.1-5, 2015.

MENA, E.; LEIVA-MORA, M.; JAYAWARDANA, E. K. D.; GARCÍA, L.; VEITÍA, N.; BERMÚDEZ-CARABALLOSO, I.; COLLADO, R.; ORTÍZ, R. C. Effect of salt stress on seed germination and seedlings growth of *Phaseolus vulgaris* L. **Cultivos Tropicales**, v.36, n.3, p.71-74, 2015.

MENTEN, J. O. M.; MORAES, M. H. D.; NOVENBRE, A. D. L. C.; ITO, M. A.; Qualidade das sementes de feijão no Brasil. **Pesquisa & Tecnologia**, v.3, n.2, p.22-27, 2006.

MERCADO-RUARO, P.; DELGADO-SALINAS, A. Karyotypic studies on species of *Phaseolus* (Fabaceae: Phaseolinae). **American Journal of Botany**, v.85, n.1, p.1-9, 1998.

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

MICHELS, A. F.; SOUZA, C. A.; COELHO, C. M.; ZILIO, M. Qualidade fisiológica de sementes de feijão crioulo produzidas no Oeste e Planalto Catarinense. **Revista Ciência Agronômica**, v.45, n.3, p.620-632, 2014.

MORAES, C. S.; DIAS, T. A. B.; COSTA, S. P. P.; VIEIRA, R. C.; NORONHA, S. E.; BURLE, M. L. **Catálogo de fava (*Phaseolus lunatus* L.) conservada na Embrapa**. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2017. p.1-47.

MORAIS, M. A. S.; JARDIM, A. M. R. F.; OLIVEIRA, E. N.; OLIVEIRA, F. R.; MATOS, N. A.; SIMÕES, A. N. O NaCl inibe a germinação e a atividade da amilase

em duas espécies de feijão. **Revista Nordestina de Ciências Biológicas**, v.1, n.1, p.50-56, 2018.

MOSCONE, E.; KLEIN, F.; LAMBROU, M.; FUCHS, J.; SCHWEIZER, E. D. Quantitative karyotyping and dual-color FISH mapping of 5S and 18S-25S rDNA probes in the cultivated *Phaseolus* species (Leguminosae). **Genome**, v.42, n.6, p.1224-33, 1999.

MOSES, O.; OLAWUNI, I.; JO, I. The proximate composition and functional properties of full-fat flour and protein isolate of lima bean (*Phaseolus lunatus* L.). **Open Access Scientific Reports**, v.1, n.7, p.1-5, 2012.

MOTA, J. M.; MELO, M. P.; SILVA, F. F. S.; SOUSA, E. M. J.; SOUSA, E. S.; BARGUIL, B. M.; BESERRA JÚNIOR, J. E. A. Fungal diversity in lima bean seeds. **Brazilian Journal of Biosystems Engineering**, v.11, n.1, p.79-87, 2017.

NAKAO, A. H.; COSTA, N. R.; ANDREOTTI, M. A.; SOUZA, P. M. F.; DICKMANN, L.; CENTENO, D. C.; CATALANI, G. C. Características agronômicas e qualidade fisiológica de sementes de soja em função da adubação foliar com boro e zinco. **Cultura Agrônômica**, v.27, n.3, p.312-327, 2018.

NASCIMENTO, N. F. F.; FERREIRA, L. T. Melhoramento genético da fava. In: SOUZA, T.A.F.; SANTOS, D. (Org.). O AGRONEGÓCIO DA FAVA NO NORDESTE BRASILEIRO. 1ed., v. 1, p. 101-119, 2017.

NASCIMENTO, M. G. R.; ALVES, E. U.; SILVA, M. L. M.; RODRIGUES, C. M. Lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) seeds exposed to different salt concentrations and temperatures. **Revista Caatinga**, v.30, n.3, p.738-747, 2017.

NASCIMENTO, M. G. R.; SILVA, M. L. M.; ALVES, E. U.; RODRIGUES, C. M.; SILVA, M. J. Vigor tests in seeds creole of *Phaseolus lunatus* L. **Bioscience Journal**, v.35, n.5, p.1463-1469, 2019.

NEERGAARD, P. **Seed pathology**. 2.ed. London: Macmillan. 1979. 1191p.

NTATSI, G.; GUTIÉRREZ-CORTINES, M. E.; KARAPANOSA, I.; BARROS, A.; JULIA WEISS, J.; BALLIUD, A.; ROSA, E. A. S.; SAVVAS, D. The quality of leguminous vegetables as influenced by preharvest factors. **Scientia Horticulturae**, v. 232, n.6, p. 191–205, 2018.

PAIVA, T. S. S. **Tolerância à salinidade em cultivares de feijão-caupi**. 2014. 133f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Vitória da Conquista, 2014.

PAIVA, C. T. C.; SILVA, J. B.; DAPONT, E. C.; ALVES, C. Z.; CARVALHO, M. A. C. Qualidade fisiológica e sanitária de sementes comerciais de alface e repolho. *Revista de Ciências Agroambientais*, v.14, n.1, p.53-59, 2016.

PENHA, J. S.; LOPES, A. C. A.; GOMES, R. L. F.; PINHEIRO, J. B.; ASSUNÇÃO FILHO, J. R.; SILVESTRE, E. A.; VIANA, J. P. G.; MARTÍNEZ-CASTILLO, J.

Estimation of natural outcrossing rate and genetic diversity in lima bean (*Phaseolus lunatus* L. var. *lunatus*) from Brazil using SSR markers: implications for conservation and breeding. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v.64, n.6, p.1355-1364, 2017.

PETERSEN, P.; SILVEIRA, L.; DIAS, E.; CURADO, F.; SANTOS, A. Sementes ou grãos? Lutas para desconstrução de uma falsa dicotomia. **Revista Agriculturas: Experiências Agroecologia**, v.10, n.1, p.36-46, 2013.

POGGIO, L.; ESPERT, S. M.; FORTUNATO, R. H. Citogenética evolutiva en leguminosas americanas. **Rodriguésia**, v.59, n.3, p.423-433, 2008.

RANI, P. R.; CHELLADURAI, V.; JAYAS, D. S.; WHITE, N. D. G.; KAVITHA-ABIRAMI, C. V. Storage studies on pinto bean under different moisture contents and temperature regimes. **Journal of Stored Products Research**, v.52, n.1, p.78-85, 2013.

RAY, D. K.; RAMANKUTTY, N.; MUELLER, N. D.; WEST, P. C.; FOLEY, J. A. Recent patterns of crop yield growth and stagnation. **Nature Communications**, v.3, n.1293, p.1-7, 2012.

RAY, D. K.; MUELLER, N. D.; WEST, P. C.; FOLEY, J. A. Yield trends are insufficient to double global crop production by 2050. **PLoS ONE**, v.8, n.6, p.e66428, 2013.

RIBEIRO, N. D.; LONDERO, P. M. G.; HOFFMANN JUNIOR, L.; POERSCH, N. L.; CARGNELUTTI FILHO, A. Dissimilaridade genética para teor de proteína e fibra em grãos de feijão dos grupos preto e de cor. **Revista Brasileira de Agrociência**, v.11, n.2, p.167-173, 2005.

RODRIGUES, A. P. M. S.; MENDONÇA JÚNIOR, A. F.; TORRES, S. B.; NOGUEIRA, N. W.; FREITAS, R. M. O. Teste de tetrazólio para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de *Vigna unguiculata* (L.) Walp. **Revista Ciência Agronômica**, v.46, n.3, 2015, p.638-644, 2015.

SANTANA, D. F. Caracterização morfo-agronômicas de acessos genéticos de feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.), no município de Rio Largo/AL. 2010. 29 f. Trabalho de conclusão (Unidade Acadêmica Centro de ciências Agrárias) - Universidade Federal de Alagoas, Rio Largo, 2010.

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

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

SANTOS, M. **Qualidade fisiológica e bioquímica de sementes de feijão crioulo em condições de estresse por frio**. 2014. 153 f. Dissertação (Recursos Genéticos Vegetais) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2014.

SANTOS, A. S.; CURADO, F. F.; TAVARES, E. D. Pesquisas com sementes crioulas e suas interações com as políticas públicas na região Nordeste do Brasil. **Cadernos de Ciência & Tecnologia**, v. 36, n. 3, e26514, 2019.

SEIDU, K. T.; OSUNDAHUNSI, O. F.; OLALEYE, M. T.; OLUWALANA, I. B. Amino acid composition, mineral contents and protein solubility of some lima bean (*Phaseolus lunatus* L. Walp.) seeds coat. **Food Research International**, v.73, n.2, p.130-134, 2015.

SERRANO-SERRANO, M. L.; HERNÁNDEZ-TORRES, J.; CASTILLO-VILLAMIZAR, G.; DEBOUCK, D. G.; SÁNCHEZ, M. I. Gene pools in wild Lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) from the mericas: evidences for an Andean origin and past migrations. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v.54, n.1, p.76-87, 2010.

SINGH, R. J. **Plant cytogenetics**. 2.ed. CRC Press, 2003. 463p.

SILVA, H. T.; COSTA, A. O. **Caracterização botânica de espécies silvestres do gênero *Phaseolus vulgaris* L. (Leguminosae)**. Embrapa Arroz e Feijão, 21.ed. 2003. 40p.

SILVA, R. N. O.; LOPES, A. C. A.; GOMES, R. L. F.; SILVA, S. C. C. C. E. **Caracterização morfológica de sementes de fava do banco de germoplasma da Universidade Federal do Piauí**. In: SIMPOSIUM INTERNACIONAL SOBRE RECURSOS GENÉTICOS DE AMÉRICA LATINA Y EL CARIBE - SIRGEALC, 2007, Cidade do México. SIMPOSIO DE RECURSOS GENÉTICOS PARA AMÉRICA LATINA Y EL CARIBE, 2007. p.80.

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

SILVA, V. N.; ZAMBIASI, C. A.; TILLMANN, M. A. A.; MENEZES, N. L.; VILLELA, F. A. Condução do teste de condutividade elétrica utilizando partes de sementes de feijão. **Revista de Ciências Agrárias**, v.37, n.2, p.206-213, 2014.

SILVA, V. B.; GOMES, R. L. F.; LOPES, A. C. A.; SANTOS DIAS, C. T. S.; SILVA, R. N. O. Genetic diversity and promising crosses indication in lima bean (*Phaseolus lunatus*) accessions. **Semina: Ciências Agrárias**, v.36, n.2, p.683-692, 2015.

SILVA, S. I. A.; SOUZA, T.; SANTOS, D.; SOUZA, R. F. S. Avaliação dos componentes de produção em variedades crioulas de fava cultivadas no Agreste da Paraíba. **Revista de Ciências Agrárias**, v.42, n.3, p.731-742, 2019.

SOUZA, M. F.; CAMPOS, F. A. P.; PRISCO, J. T.; ENÉAS-FILHO, J.; GOMES FILHO, E. Growth and protein pattern in cowpea seedlings subjected to salinity. **Biologia Plantarum**. v.47, n.3, p.341-346, 2003.

THIRIOT-QUIÉVREUX, C.; CUZIN-ROUDY, J. Karyological study of the Mediterranean krill *Meganyctiphanes norvegica* (Euphausiacea). **Journal of Crustacean Biology**, v.15, n.1, p.79-85, 1995.

TORRES, S. B.; PAIVA, E. P.; ALMEIDA, J. P. N.; BENEDITO, C. P.; CARVALHO, S. M. C. C. Teste de condutividade elétrica na avaliação da qualidade fisiológica de sementes de coentro. **Revista Ciência Agronômica**, v.46, n.3, p.622-629, 2015.

TURNER, B. L. Chromosome number in the Leguminosae. **American Journal of Botany**, v.43, n.8, p.577-581, 1956.

USDA-NASS (United States Department of Agriculture-National Agricultural Statistics Service Information). Principal **processing vegetables, area planted, harvested, production and value by Crop - United States: 2013-2015 (Domestic Units)**. Vegetables 2015 Summary, p.56-58, 2016.

VARGAS, E. M.; CASTRO, E.; MACAYA, G.; ROCHA, O. J. Variación del tamaño de frutos y semillas en 38 poblaciones silvestres de *Phaseolus lunatus* (Fabaceae) del Valle Central de Costa Rica. **Revista de Biología Tropical**, v.51, n.3, p.707-724, 2003.

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

VIGIL, C. C. **Manual del cultivo del pallar**. Fondo Empleo y CEDEP-Perú: Ica. 2009. 2.ed. 14p.

ZAMBIAZZI, E. V.; BRUZI, A. T.; ZUFFO, A. M.; SOARES, I. O.; MENDES, A. E. S.; TERESANI, A. L. R.; GWINNER, R.; CARVALHO, J. P. S.; MOREIRA, S. G. Desempenho agrônomico e qualidade sanitária de sementes de soja em resposta à adubação potássica. **Revista de Ciências Agrárias**, v.40, n.3, p.543-553, 2017.

ZENG, J.; NAKATA, J.; UCHIYAMA, H.; MORIKAWA, H.; TANAKA, R. Giemsa Cbanding patterns in several species of *Phaseolus* (L.) and *Vigna* Savi, Fabaceae. **Cytologia**, v.56, n.2, p.459-466, 1991.

ZENI, J.; MACIEL, C. G. Qualidade fisiológica e sanitária de sementes de *Acacia mearnsii* de Wild. - Fabaceae. **Scientific Electronic Archives**, v.11, n.2, p.1-7, 2018.

ZIMMERMANN, M. J. O; TEIXEIRA, M. G. Origem e evolução. 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 (POTAFOS), 1996. 786p.

ZORO BI, I.; MAQUET, A.; BAUDOUIN, J. P. Population genetic structure of wild *Phaseolus lunatus* (Fabaceae), with special reference to population sizes. **American Journal of Botany**, v.90, n.6, p.897-904, 2003.

ZUCARELI, C.; BRZEZINSKI, C. R.; ABATI, J.; WERNER, F.; JÚNIOR, E. U. R.; NAKAGAWA, J. Qualidade fisiológica de sementes de feijão carioca armazenadas em diferentes ambientes. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.19, n.8, p.803-809, 2015.

WITTMANN, M. T. S.; DALL'AGNOL, M. Indução de poliploidia no melhoramento de plantas. **Pesquisa Agropecuária Gaúcha**, v.9, n.1-2, p.155-164, 2003.

**Análise cariotípica em diferentes variedades de *Phaseolus lunatus* L. (Phaseoleae, Fabaceae): estabilidade em número cromossômico e padrão de heterocromatina**

(A ser submetido ao periódico - Revista Chilean Journal of Agriculture Research)

**Análise cariotípica em diferentes variedades de *Phaseolus lunatus* L. (Phaseoleae, Fabaceae): estabilidade em número cromossômico e padrão de heterocromatina**

**RESUMO**

Em espécies vegetais com variações morfológicas intraespecíficas pode haver diferenças cariotípicas, principalmente no número cromossômico ou padrão de heterocromatina. *Phaseolus lunatus* L., tem significativa variedade morfológica na cor e tamanho de suas sementes, embora seu número cromossômico seja constante ( $2n = 22$ ), análises de diferentes variedades desta espécie podem revelar variações no padrão de heterocromatina. Neste sentido, o objetivo foi analisar o cariótipo de diferentes variedades crioulas de *P. lunatus* por meio da distribuição de bandas heterocromáticas e investigar a existência de variações intraespecíficas correlacionadas ou não ao tamanho e morfologia das sementes entre as variedades. No total, 19 variedades crioulas de *P. lunatus* foram analisadas com uso dos fluorocromos cromomicina A3 (CMA) e 4'-diaminidino-2-fenilindol (DAPI). Para todas as variedades analisadas foi constatado  $2n = 22$  e cariótipos formados por duas bandas CMA<sup>+</sup> terminais e 22 bandas CMA<sup>+</sup> pericentroméricas. A análise cariotípica envolvendo 19 variedades de *P. lunatus* L., confirmou a existência de estabilidade cariotípica em relação ao número cromossômico ( $2n = 22$ ) e padrão de bandas heterocromáticas, onde são registradas 22 bandas CMA<sup>+</sup>/DAPI<sup>-</sup> pericentroméricas e duas bandas CMA<sup>+</sup>/DAPI<sup>-</sup> terminais. Embora *P. lunatus* tenha ampla variação no tamanho, forma e cor das suas sementes, estas diferenças morfológicas não são correlacionadas a caracteres cariotípicos. Desta forma, variação intraespecífica citológica na espécie provavelmente é inexistente, embora a análise de plantas oriundas dos principais centros de origem ou de plantas silvestres possa ser promissora para incrementar as discussões sobre a estabilidade cariotípica em *P. lunatus*.

Palavras chave: citogenética, estabilidade cariotípica, heterocromatina, número cromossômico.

**ABSTRACT**

Plant species with intraspecific morphological variations may show karyotypic differences, mainly in chromosomal numbers or heterochromatin patterns. *Phaseolus lunatus* L., has high morphological variation in color and size of seeds. Despite the constant number of chromosomes ( $2n = 22$ ), the analyses of this species' landraces can reveal variations in the heterochromatin pattern. This work aims to analyze the karyotype of different landraces of *P. lunatus* L., through the distribution of heterochromatic bands and the existence of intraspecific variations correlated or not with the size and morphology of seeds. Nineteen landraces of *P. lunatus* were analyzed using the chromomycin A3 (CMA3) and 4',6-diamidino-2-phenylindole (DAPI) fluorochromes. All seed landraces have  $2n = 22$  chromosomes and karyotypes formed by two CMA<sup>+</sup> bands terminals and 22 CMA<sup>+</sup> pericentromeric bands. The karyotype analysis confirmed the existence of karyotype stability concerning the chromosome number ( $2n = 22$ ) and heterochromatic bands pattern, recording 22 pericentromeric CMA<sup>+</sup>/DAPI<sup>-</sup> bands and two CMA<sup>+</sup>/DAPI<sup>-</sup> terminal bands.

Key words: cytogenetics, karyotype stability, heterochromatin, chromosome number.

## INTRODUÇÃO

A espécie *Phaseolus lunatus* L. é uma importante fonte de alimento e renda para diversas populações, sendo a segunda espécie de maior interesse econômico do gênero *Phaseolus*, ficando atrás apenas de *P. vulgaris* L. (Oliveira et al., 2004). Esta espécie tem rusticidade e capacidade de resistir a longos períodos de secas, cujas características a tornam uma cultura importante para as regiões semiáridas, incluindo o Nordeste brasileiro (Araujo et al., 2015).

Inicialmente *P. lunatus* foi cultivada a partir de plantas nativas originadas da América Central e regiões Andinas na América do Sul, o que resultou em dois grupos genéticos distintos na espécie, o Mesoamericano (sementes pequenas) e o Andino (sementes grandes) (Serrano-Serrano et al., 2010). O cultivo e cruzamento de diferentes variedades resultaram em uma ampla diversidade morfológica de sementes de *P. lunatus*, com distintos tamanhos e colorações, cujas variedades geralmente recebem nomes tradicionais, conforme as populações locais a designam com base em caracteres particulares, como “Orelha de Vó”, “Galo-de-Campina”, “Coquinho” e “Boca-de-Moça” (Moraes et al., 2017).

Em alguns grupos vegetais variações na morfologia da planta, no tamanho do fruto e sementes podem ser correlacionadas com variações cariotípicas, especialmente número e morfologia cromossômica (Gutiérrez-Flores et al., 2018). Para *P. lunatus*, contudo, observa-se o registro constante de  $2n = 22$  em diversas variedades, sem registros de poliploidia ou disploidia (Mercado-Ruaro e Delgado-Salinas, 1998, 2000; Ferreira, 2008; Rice et al., 2015). Nos grupos vegetais numericamente estáveis, o emprego de marcadores citomoleculares é indicado na diferenciação cariotípica, contribuindo para análises evolutivas e diferenciações taxonômicas (Pessoa et al., 2014; Cordeiro et al., 2016). Para *P. lunatus*, o uso de marcadores citomoleculares indicaram diferenças expressivas entre esta espécie e *P. vulgaris*, em que eventos estruturais de transposição ou inversão pericêntrica podem ter ocorrido depois da separação de ambas as linhagens (Almeida e Pedrosa-Harand, 2011; Bonifácio et al., 2012).

Estudos citogenéticos são utilizados como suporte para a taxonomia e também para a compreensão evolutiva dos táxons (Biondo et al., 2005; Bortoluzzi et al., 2007). Desse modo, a contagem cromossômica agregada ao método de bandeamentamento com dupla coloração por fluorocromos CMA/DAPI permitem comparar cariótipos e separar

espécies ou variedades diferentes que possuem o mesmo número cromossômico (Guerra, 1993; Guerra e Souza, 2002; Pessoa et al., 2014).

No gênero *Phaseolus* a heterocromatina é estudada principalmente em espécies de interesse econômico, sobretudo *P. vulgaris*, em que se observa as formações de regiões heterocromáticas ricas em GC (CMA) distribuídas na região pericentromérica da maioria dos cromossomos, além de duas bandas subtelomérica (ou terminais) (Fonsêca et al., 2010).

As pesquisas com Fabaceae têm sido objeto de avaliações genômicas, incluindo sequenciamento completo, uso de marcadores moleculares e análises de transcriptoma e tem colaborado para o entendimento das suas relações interespecíficas e intergenéricas (Varshney et al., 2012). Diferentes estudos têm demonstrado uma macrossintenia entre as leguminosas, com poucos rearranjos cromossômicos entre espécies do mesmo gênero, como observado, por exemplo, para *Glycine max* (Gm) e *G. soja* Siebold & Zucc. (Findley et al., 2010) e para *P. vulgaris* e *P. lunatus* em estudos citocomparativos (Bonifácio et al., 2012; Almeida e Pedrosa-Harand, 2013). Mesmo entre *P. vulgaris* e *P. microcarpus* espécie filogeneticamente mais distante (Delgado-Salinas et al., 2006) foi observada um forte sintenia com apenas três quebras de colinearidade (Fonsêca e Pedrosa-Harand, 2013).

Apesar desta presumível estabilidade cariotípica em *Phaseolus*, análises mais aprofundadas envolvendo um grande número de variedades de uma mesma espécie são pouco discutidas e podem revelar variações cariológicas intraespecíficas correlacionadas às variações morfológicas. No presente trabalho o objetivo foi analisar o cariótipo de diferentes variedades crioulas de *P. lunatus* por meio da distribuição de bandas heterocromáticas e investigar a existência de variações intraespecíficas relacionadas ou não ao tamanho e morfologia das sementes entre as variedades.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Amostragem

A análise citogenética envolveu 19 variedades crioulas de *P. lunatus* provenientes dos municípios de Queimadas (18 variedades) e Sertãozinho (uma variedade) na Paraíba, Nordeste do Brasil (Tabela 1). As sementes das variedades possuíam diferentes variações em relação ao tamanho, morfologia e cores variadas (brancas, pretas, marrons, maculadas, roxas entre outras) (Figura 1), segundo a

classificação conforme o descritor Internacional Institute of Plant Genetic Resources (Ipgri, 2001). As sementes podem ser classificadas como pequenas (< 10 mm) e grandes (> 10 mm). Dez sementes por variedade foram postas para germinar em placas de Petri e quando as radículas atingiram em média 1 cm foram coletadas para posterior análise.

### **Análise citogenética e bandeamento CMA/DAPI**

Pontas de raízes foram pré-tratadas com 8-hidroxiquinoleína (8-HQ) 0,002 M por 24 horas a 10 °C, fixadas em etanol absoluto/ácido acético glacial (v/v) 3:1 por 30 minutos e estocadas em freezer a 20 °C. Para o preparo das lâminas as raízes foram digeridas em solução contendo 2% de celulase e 20% de pectinase a 37 °C por 30 minutos. O material foi esmagado em ácido acético 60% e congelado em nitrogênio líquido para remoção da lamínula. As lâminas foram coradas com DAPI (2 µg/mL): glicerol (1:1, v/v) para seleção das melhores lâminas. Posteriormente, as lâminas foram descoradas em etanol-ácido acético (3:1) por 30 minutos e mantidas em etanol absoluto a temperatura ambiente por duas horas. As lâminas foram envelhecidas por três dias e então coradas por uma hora com 10µL de CMA (0,1 mg/mL) e depois com 10µL de DAPI (1 µg/mL) por meia hora, montadas em glicerol/tampão McIlvaine (pH 7,0) (1:1, v/v) e depois estocadas por três dias no escuro para estabilização dos fluorocromos (Guerra e Souza, 2002).

As metáfases foram fotografadas em fotomicroscópio Zeiss, com câmera de vídeo Axio Cam MRC5 usando o software Axiovision® v.4.8 (Carl Zeiss Microscopy GmbH, Jena, Germany). As imagens foram editadas com o uso do software Adobe Photoshop CS3 Extended Version 10.0. As medições cromossômicas foram realizadas com o auxílio do programa ImageJ 1.51k (Schneider et al., 2012) e a morfologia cromossômica estabelecida conforme Guerra (1986) e a classificação cromossômica baseada no índice centromérico, de acordo com o método proposto por Levan et al. (1964).

## **RESULTADOS**

Para todas as variedades analisadas constatou-se  $2n = 22$ , cariótipos com tamanho médio entre 1,23 a 4,02 µm relativamente simétricos e cromossomos predominantemente metacêntricos (Tabela 1, Figuras 2 e 3), resultado esse confirmado pelo índice centromérico maior que 36,53 os cromossomos são considerados

metacêntricos (Tabela 1), mesmo não tendo diferenças cromossômicas, as sementes das variedades demonstraram diferenças visuais quanto ao seu tamanho e coloração (Figura 1).

Através da análise dos fluorocromos CMA/DAPI constatou-se a ocorrência apenas de regiões ricas em pares de base GC ( $\text{CMA}^+/\text{DAPI}^-$ ) distribuídas nas regiões terminais (duas bandas) e pericentroméricas (22 bandas) (Figura 4). Os cariótipos de todas as variedades de *P. lunatus* são relativamente estáveis (número cromossômico, morfologia e bandas heterocromáticas), independente da morfologia, tamanho ou cor de suas sementes.

## DISCUSSÃO

Os resultados encontrados neste trabalho para *P. lunatus* confirmam dados prévios descritos na literatura para esta espécie, seja em relação ao constante número cromossômico em diferentes variedades ( $2n = 22$ ) ou em relação à distribuição de heterocromatina, onde são registradas 22 bandas  $\text{CMA}^+/\text{DAPI}^-$  pericentroméricas e duas bandas  $\text{CMA}^+/\text{DAPI}^-$  terminais, estas últimas correspondentes às RONS (regiões organizadoras de nucléolos) (Bonifácio et al., 2012; Fonsêca e Pedrosa-Harand, 2013). A morfologia cromossômica e o índice centromérico confirmam a caracterização de um cariótipo simétrico com a predominância de cromossomos aproximadamente do mesmo tamanho (Paszko, 2006).

Em determinados grupos vegetais variações em caracteres morfológicos das plantas (tamanho da planta e dos frutos, morfologia floral, presença de tricomas) podem ser correlacionados a variações cariotípicas, especialmente número e morfologia dos cromossomos e bandas heterocromáticas (Imran et al., 2015; Begum e Alam, 2016; Gutiérrez-Flores et al., 2018; Ferrer et al., 2019). Entre as Fabaceae, *P. lunatus* tem ampla variação na morfologia de suas sementes (tamanho, forma e cor), e alterações cariotípicas poderiam estar envolvidas nesta característica da espécie. Contudo, nas análises citogenéticas desenvolvidas neste trabalho envolvendo diversas variedades de *P. lunatus* com distintas características morfológicas não houve diferenças significativas em relação ao número cromossômico ( $2n = 22$ ), morfologia dos cromossomos (predominantemente metacêntrica) ou padrão de bandas heterocromáticas (duas bandas terminais e 20 pericentroméricas  $\text{CMA}^+/\text{DAPI}^-$ ).

Embora seja esperado que grupos vegetais tenham número cromossômico e padrão de distribuição de heterocromatina constantes em uma mesma espécie (Guerra,

2000, 2008), variações intraespecíficas são observadas em alguns grupos, como *Zephyranthes sylvatica* Baker (Amaryllidaceae) (Felix et al., 2008), *Anthurium affine* Schott (Araceae) (NASCIMENTO et al., 2019) e *Pinus nigra* Arnold (Pinaceae) (Bogunić et al., 2015). Em muitos casos, a estabilidade cariotípica no número cromossômico e/ou distribuição de heterocromatina verificada em uma mesma espécie pode se estender a um gênero ou clado filogenético por inteiro, caracterizando-se assim como um carácter cariotípico plesiomórfico deste grupo.

Em gêneros como *Lycium* L. (Solanaceae) (Stiefkens et al., 2010), *Pereskia* Mill. (Cactaceae) (Castro et al., 2016) e *Ceiba* Mill. (Malvaceae) (Figueredo et al., 2016), por exemplo, os padrões de heterocromatina são notavelmente estáveis e característicos. No gênero *Phaseolus* o número cromossômico é constante ( $2n = 22$ ), embora existam determinadas variações no padrão de heterocromatina evidenciadas por CMA/DAPI e FISH (Fluorescence in situ hybridization) entre algumas espécies (Moscone et al., 1999; Bonifácio et al., 2012; Fonsêca e Pedrosa-Harand, 2013).

Nos eucariotos, na heterocromatina há diferentes classes, dinâmicas estruturais e distintas sequências de composição (DNA satélites, transposons, sequências repetidas em tandem), o que repercute especialmente em sua localização no cromossomo (pericentromérica, terminal e intersticial), mas também no tamanho e quantidade no cariótipo das espécies (Barros e Silva et al., 2010; Mehrotra e Goyal, 2014; Allshire e Madhani, 2017). Em *P. lunatus* a repetição do padrão de bandas heterocromáticas entre as diferentes variedades indica uma natureza estável em sua composição, necessitando de análises mais aprofundadas para revelar diferenças intraespecíficas notáveis. Contudo, mesmo entre diferentes espécies a busca de variações cariotípicas significativas parece ser desafiadora. Entre *P. lunatus* e *P. vulgaris*, por exemplo, diferenças citotaxonômicas só foram possíveis de serem estabelecidas após a utilização de análises citomoleculares envolvendo CMA/DAPI, BAC (Bacterial Artificial Chromosomes) e FISH (Bonifácio et al., 2012; Fonsêca e Pedrosa-Harand, 2013).

Análises envolvendo plantas oriundas dos principais centros de origem de *P. lunatus* ou de diferentes regiões do continente americano, ou mesmo a análise cariotípica de plantas silvestres, podem ser promissoras para incrementar as discussões sobre a estabilidade cariotípica existente no número cromossômico e distribuição de heterocromatina desta espécie.

## CONCLUSÕES

A análise cariotípica envolvendo 19 variedades de *Phaseolus lunatus* L., confirmou a existência de estabilidade cariotípica em relação ao número cromossômico ( $2n = 22$ ) e padrão de bandas heterocromáticas, onde são registradas 22 bandas CMA<sup>+</sup>/DAPI<sup>-</sup> pericentroméricas e duas bandas CMA<sup>+</sup>/DAPI<sup>-</sup> terminais.

Embora em *P. lunatus* ocorra ampla variação no tamanho, forma e cor das suas sementes, estas diferenças morfológicas não são correlacionadas a caracteres cariotípicos. Desta forma, variação intraespecífica citológica na espécie provavelmente é inexistente, embora a análise de plantas oriundas dos principais centros de origem ou de plantas silvestres possa ser promissora para incrementar as discussões sobre a estabilidade cariotípica em *P. lunatus*.

## REFERÊNCIAS

- Allshire, R.C., Madhani, H.D. 2018. Ten principles of heterochromatin formation and function. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 19(4):229-244.
- Almeida, C., Pedrosa-Harand, A. 2011. Contrasting rDNA evolution in lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) and common bean (*P. vulgaris* L., Fabaceae). *Cytogenetic and Genome Research* 132(3):212-217.
- Almeida, C., Pedrosa-Harand, A. 2013. High macro-collinearity between lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) and the common bean (*P. vulgaris* L.) as revealed by comparative cytogenetic mapping. *Theoretical and Applied Genetics* 126(7):1909-1916.
- Araujo, A.S., Lopes, A.C.A., Gomes, R.L.F., Bezerra Junior, J.E.A., Antunes, J.E.L., Lyra, M.C.C.P., Barreto, F.M.V.B. 2015. Diversity of native rhizobia-nodulating *Phaseolus lunatus* in Brazil. *Legume Research* 38(5):653-657.
- Barros e Silva, A.E., Marques, A.S., Karla, G.B., Guerra, M. 2010. The evolution of CMA bands in *Citrus* and related genera. *Chromosome Research* 18(4):503-514.
- Begum, K.N., Alam, S.S. 2016. Differential fluorescent banding in nine varieties of *Cicer arietinum* L. *Cytologia* 81(4):383-387.

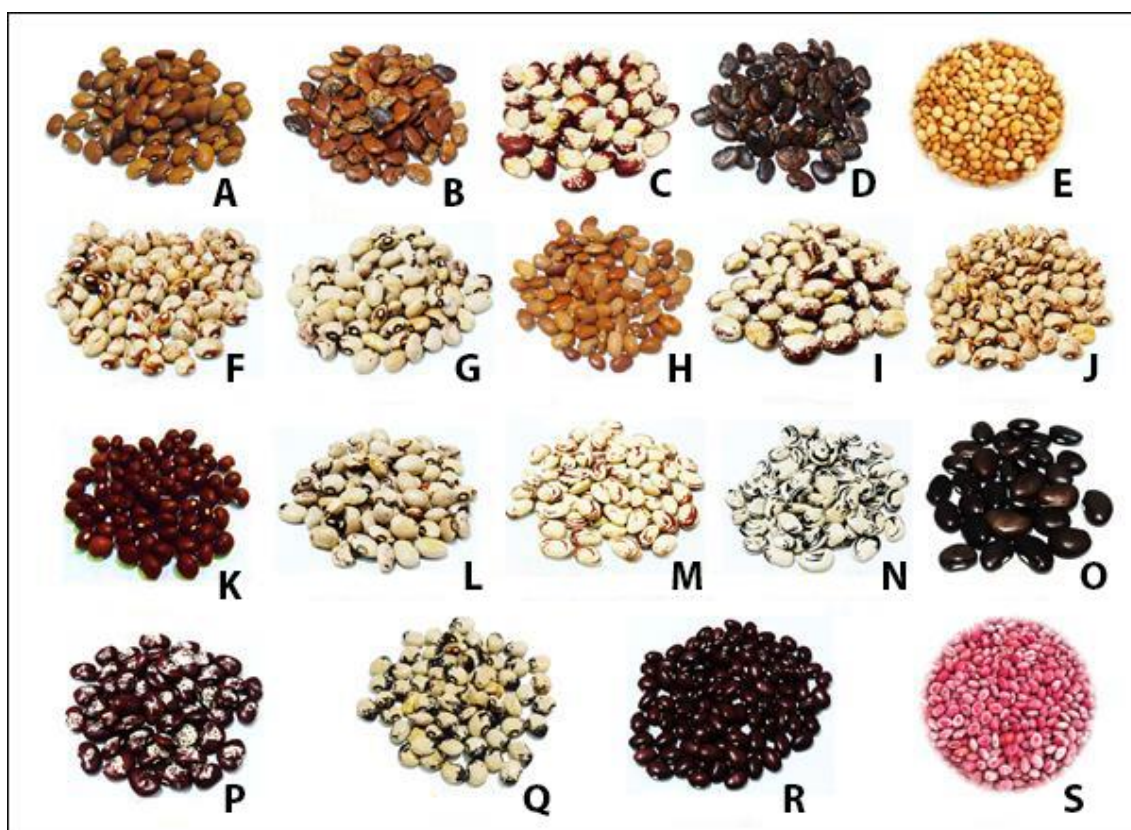
- Biondo, E., Miotto, S.T.S., Schifino-Wittmann, M.T. 2005. Números cromossômicos e implicações sistemáticas em espécies da subfamília Caesalpinioideae (Leguminosae) ocorrentes na região Sul do Brasil. *Revista Brasileira de Botânica* 28(4):797-808.
- Bogunić, F., Siljak-Yakovlev, S., Muratović, E., Ballian, D. 2015. Different karyotype patterns among allopatric *Pinus nigra* (Pinaceae) populations revealed by molecular cytogenetics. *Plant Biology* 13(1):194-200.
- Bonifácio, E.M., Fonsêca, A., Almeida, C., Santos, K.G., Pedrosa-Harand, A. 2012. Comparative cytogenetic mapping between the lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) and the common bean (*P. vulgaris* L.). *Theoretical and Applied Genetics* 124(8):1513-1520.
- Bortoluzzi, R.L.C., Biondo, E., Miotto, S.T.S., Schifino-Witmann, M.T. 2007. Abordagens taxonômicas e citogenéticas em Leguminosae-Caesalpinioideae na região Sul do Brasil. *Revista Brasileira Biociências* 5(2):339-341.
- Castro, J.P., Medeiros-Neto, E., Souza, G., Alves, L.I., Batista, F.R., Felix, L.P. 2016. CMA band variability and physical mapping of 5S and 45S rDNA sites in Brazilian Cactaceae: Pereskioideae and Opuntioideae. *Brazilian Journal of Botany* 39(2):613-620.
- Cordeiro, J.M.P., Lima, S.A.A., Paz, S.N., Santos, A.M.S., Felix, L.P. 2016. Karyotype evolution in the genus *Jacaranda* Juss. (Jacarandaeae, Bignoniaceae): chromosome numbers and heterochromatin. *Genetics and Molecular Research* 15(4):1-8.
- Delgado-Salinas, A., Bibler, R., Lavin, M. 2006. Phylogeny of the genus *Phaseolus* (Leguminosae): a recent diversification in an ancient landscape. *Systematic Botany* 31(4):779-791.
- Felix, W.J.P., Dutilh, J.H.A., Melo, N.F., Fernandes, A.A., Felix, L.P. 2008. Intrapopulational chromosome number variation in *Zephyranthes sylvatica* Baker (Amaryllidaceae: Hippeastreae) from Northeast Brazil. *Revista Brasileira de Botânica* 31(2):371-375.
- Ferreira, A.G. 2008. Caracterização morfológica, citogenética e palinológica de genótipos de feijão-vagem *Phaseolus vulgaris* L. (Fabaceae). 2008. 60f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal.
- Ferrer, M.M.; Ruenes-Morales, M.D.R.; Montanez-Escalante, P.; Rivero-Manzanilla, J.G. 2019. Variation of chromosomal complement in the Mexican plum *Spondias*

- purpurea* L.: polyploid series in landraces cultivated by Mayan of Yucatan. *Fruits* 74(4):145-149.
- Figueredo, A.; Oliveira, Á.W.L.; Carvalho-Sobrinho, J.G.; Souza, G. 2016. Karyotypic stability in the paleopolyploid genus *Ceiba* Mill. (Bombacoideae, Malvaceae). *Brazilian Journal of Botany* 39(4):1087-1093.
- Findley, S.D., Cannon, S., Varala, K., Du, J., Ma, J., Hudson, M.E., Birchler, J.A., Stacey, G. 2010. Fluorescence in situ hybridization system for karyotyping soybean. *Genetics* 185(3):727-744.
- Fonsêca, A., Ferreira J., Santos, T.R.B., Mosiolek, M., Bellucci, E., Kami J., Gepts, P., Geffroy, V., Schweizer, D., Santos, K.G.B., Pedrosa-Harand, A. 2010. Cytogenetic map of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Chromosome Research* 18(4):487-502.
- Fonsêca, A., Pedrosa-Harand, A. 2013. Karyotype stability in the genus *Phaseolus* evidenced by the comparative mapping of the wild species *Phaseolus microcarpus*. *Genome* 56(6):335-343.
- Guerra, M. 1986. Reviewing the chromosome nomenclature of Levan et al. *Revista Brasileira de Genética* 9(4):741-743.
- Guerra, M. 1993. Cytogenetics of Rutaceae. V. High chromosomal variability in *Citrus* species revealed by CMA/DAPI staining. *Heredity* 71(1):234-241.
- Guerra, M. 2000. Patterns of heterochromatin distribution in plant chromosomes. *Genetics and Molecular Biology* 23(4):1029-1041.
- Guerra, M. 2008. Chromosome numbers in plant cytotaxonomy: concepts and implications. *Cytogenetic and Genome Research* 120(3-4):339-350.
- Guerra, M., Souza, M.J. 2002. *Como observar cromossomos: um guia de técnicas em citogenética vegetal, animal e humana*. Ribeirão Preto, SP: FUNPEC-Editora, 131p.
- Gutiérrez-Flores, C., Luz, J.L.L., León, F.J.G., Cota-Sánchez, J.H. 2018. Variation in chromosome number and breeding systems: implications for diversification in *Pachycereus pringlei* (Cactaceae). *Comparative Cytogenetics* 12(1):61-82.
- IPGRI. 2001. *Descritores para Phaseolus lunatus (feijão-espadinho)*. International Plant Genetic Resources Institute, Rome, 51.
- Imran, M.K., Sultana, S.S., Alam, S.S. 2015. Differential chromosome banding and RAPD analysis in three varieties of *Glycine max* (L.) Merr. *Cytologia* 80(4):447-455.

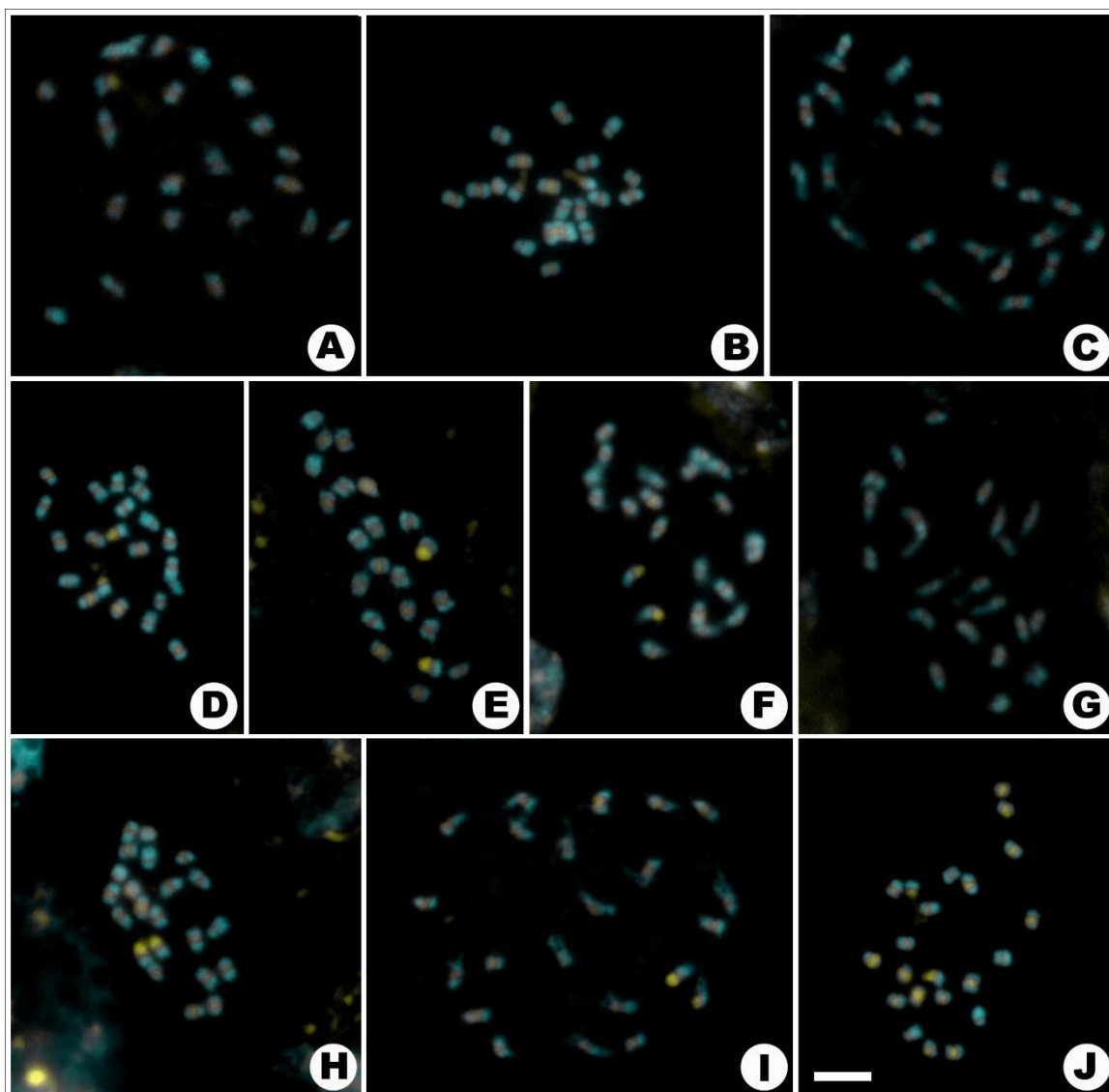
- Levan, A., Fredga, K., Sandberg, A.A. 1964. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. *Hereditas* 52:201-220.
- Mehrotra, S., Goyal, V. 2014. Repetitive sequences in plant nuclear DNA: types, distribution, evolution and function. *Genomics Proteomics Bioinformatics* 12: 164-171.
- Mercado-Ruaro, P., Delgado-Salinas, A. 1998. Karyotypic studies on species of *Phaseolus* (Fabaceae: Phaseolinae). *American Journal of Botany* 85(1):1-9.
- Mercado-Ruaro, P.; Delgado-Salinas, A. 2000. Cytogenetic studies in *Phaseolus* L. (Fabaceae). *Genetics and Molecular Biology* 23(4):985-987.
- Moraes, C.S., Dias, T.A.B.; Costa, S.P.P.; Vieira, R.C.; Noronha, S.E.; Burle, M.L. 2017. *Catálogo de fava (Phaseolus lunatus L.) conservada na Embrapa*. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.
- Moscone, E.A., Klein, F., Lambrou, M., Fuchs, J.; Schweizer, D. 1999. Quantitative karyotyping and dual-color FISH mapping of 5S and 18S-25S rDNA probes in the cultivated *Phaseolus* species (Leguminosae). *Genome* 42(6):1224-1233.
- Nascimento, S., Coelho, M.A.N., Cordeiro, J.M.P., Felix, L.P. 2019. Chromosomal variability in Brazilian species of *Anthurium* Schott (Araceae): heterochromatin, polyploidy, and B chromosomes. *Genetics and Molecular Biology* 42(3):635-642.
- Oliveira, A.P., Alves, E.U., Alves, A.U., Dornelas, C.S.M., Silva, J.A., Pôrto, M.L., Alves, A.V. 2004. Produção de feijão-fava em função do uso de doses de fósforo em um Neossolo Regolítico. *Horticultura Brasileira* 22(3):543-546.
- Paszko, B.A. 2006. Critical review and a new proposal of karyotype asymmetry indices. *Plant Systematics and Evolution* 258(1-2):39-48.
- Pessoa, E., Felix, L.P., Alves, M.A. 2014. New Epidendrum (Laeliinae-Orchidaceae) from the atlantic forest of Northeastern Brazil: evidence from morphology and cytogenetics. *Brittonia* 66(4):347-352.
- Rice, A., Glick, L., Abadi, S., Einhorn, M., Kopelman, N.M., Salman-Minkov, A., Mayzel, J., Chay, O., Mayrose, I. 2015. The Chromosome Counts Database (CCDB) - a community resource of plant chromosome numbers. *New Phytologist* 206(1):19-26.
- Schneider, C.A.; Rasband, W.S., Eliceiri, K.W. 2012. NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nature methods* 9 (1): 671-675.
- Serrano-Serrano, M.L., Hernández-Torres, J., Castilho-Villamizar, G., Sánchez, M.I.C. 2010. Gene pools in wild lima bean (*P. lunatus* L.) from the Americas: evidences

for an Andean origin and past migrations. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 54(1):76-87.

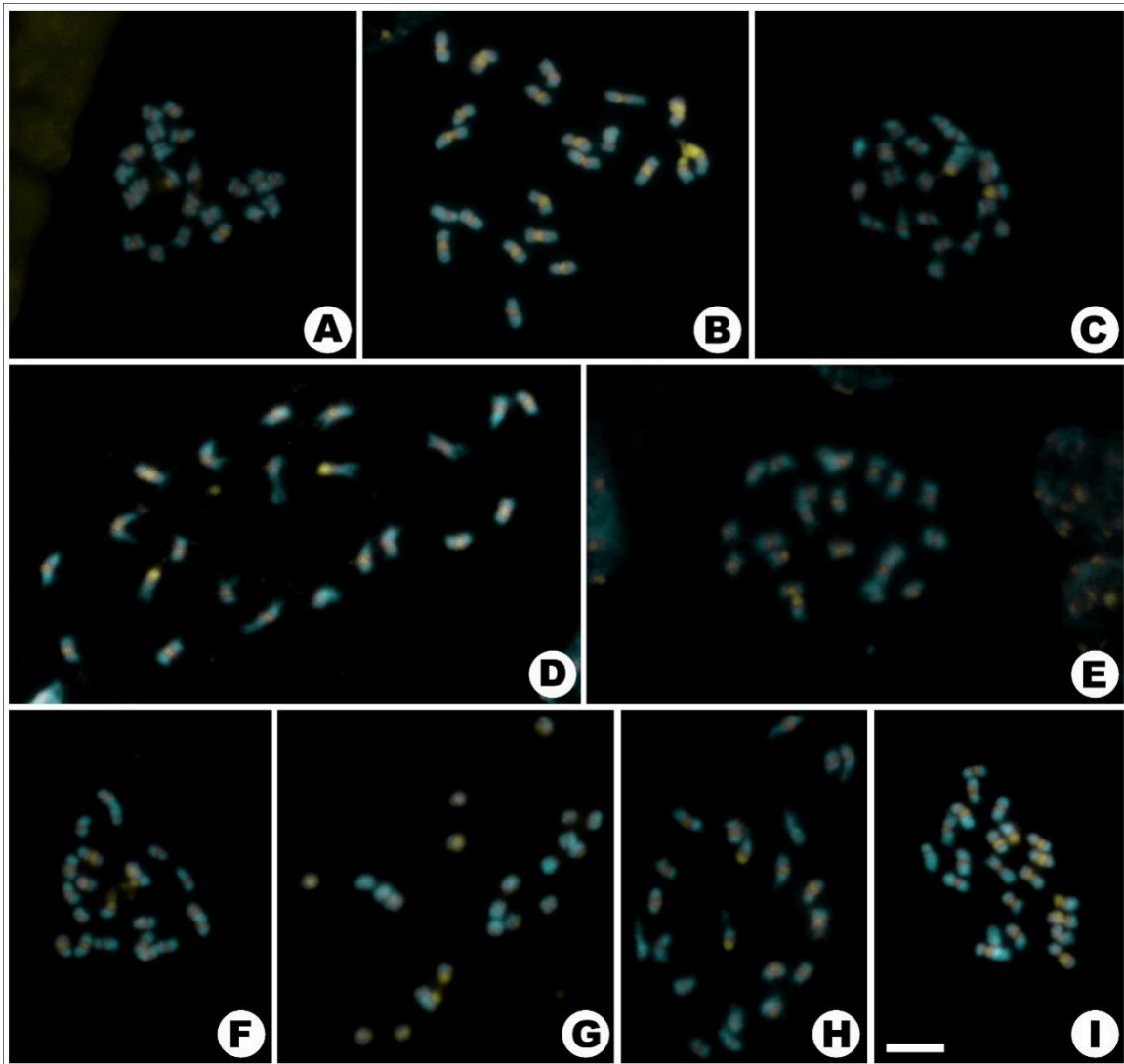
- Stiefkens, L., Las Peñas, M.L., Bernardello, G., Levin, R.A., Miller, J.S. 2010. Karyotypes and fluorescent chromosome banding patterns in southern African *Lycium* (Solanaceae). *Caryologia* 63(1):50-61.
- Varshney, R.K., Chen, W., Li, Y., Bharti, A.K., Saxena, R.K., Schlueter, J.A., Donoghue, M.T.A., Azam, S., Fan, G., Whaley, A.M., Farmer, A.D., Sheridan, J., Iwata, A., Tuteja, R., Penmetsa, R.V., Wu, W., Upadhyaya, H.D., Yang, S.P., Shah, T., Saxena, K.B., Michael, T., McCombie, W.R., Yang, B., Zhang, G., Yang, H., Wang, J., Spillane, C., Cook, D.R., May, G.D., Xu, X., Jackson, S.A. 2012. Draft genome sequence of pigeonpea (*Cajanus cajan*), an orphan legume crop of resource-poor farmers. *Nature. Biotechnology* 30(1):83-89.



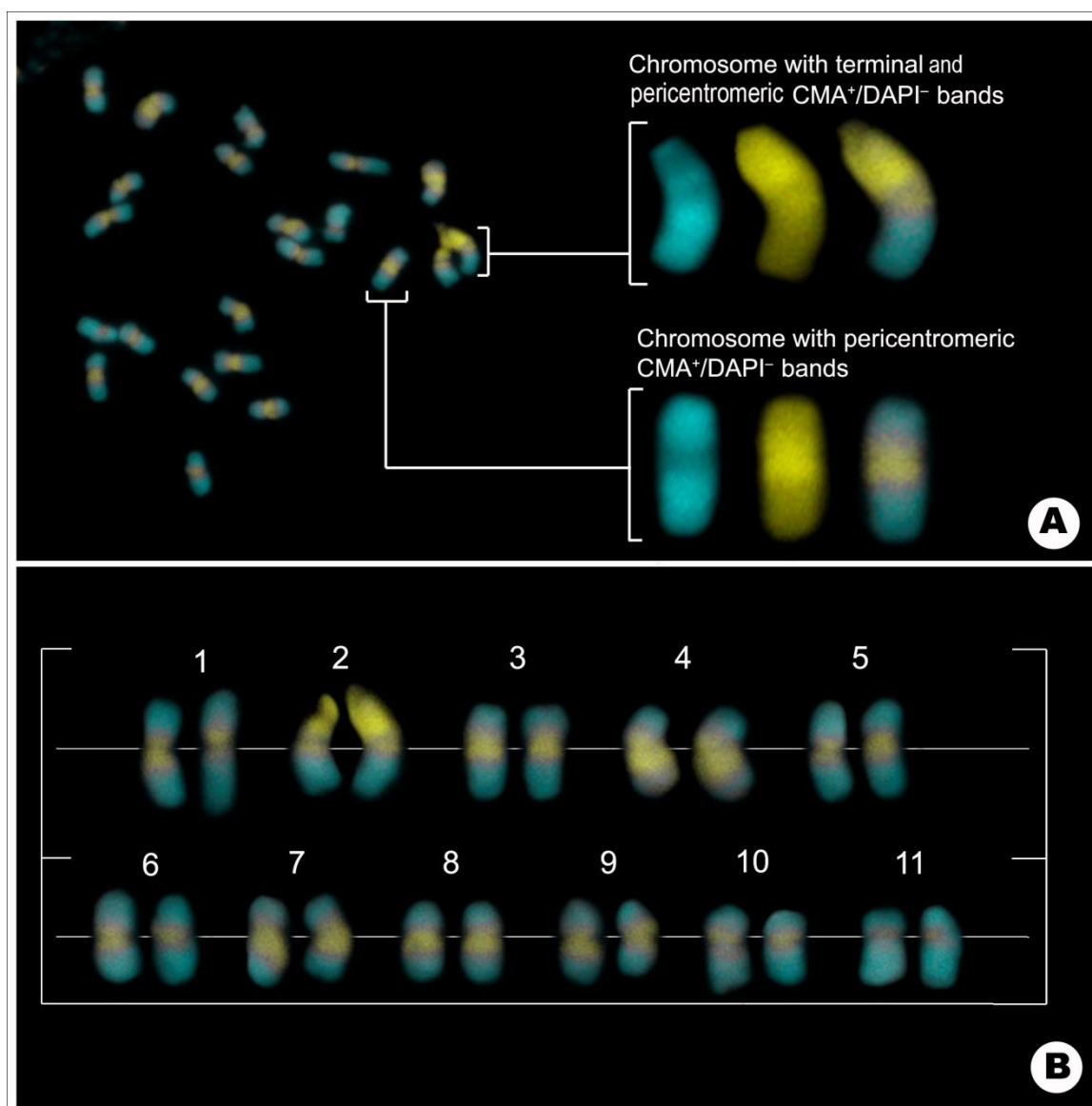
**Figura 1.** Variedades crioulas de *Phaseolus lunatus* L. A - Angico, B - Baia de Moita, C - Cancão, D - Carrapato, E - Cearense, F - Coquinha, G -Eucalipto, H - Fava Feijão, I. Lua Nova, J - Manteiga, K - Miúda, L - Olho de Ovelha, M - Orelha de Vó Vermelha, N - Orelha de Vó, O - Preta, P - Rainha, Q - Rixinou, R - Roxinha M, S - Roxinha.



**Figura 2.** Células mitóticas em diferentes variedades de *Phaseolus lunatus* L.: **A** - Angico, **B** - Baia de Moita, **C** - Cancão, **D** - Carrapato, **E** - Cearense, **F** - Coquinha, **G** - Eucalipto, **H** - Fava Feijão, **I** - Lua Nova, **J** - Manteiga. Barra de escala em **J** corresponde a 5  $\mu\text{m}$ .



**Figura 3.** Células mitóticas em diferentes variedades de *Phaseolus lunatus* L.: **A** - Miúda, **B** - Olho de Ovelha, **C** - Orelha de Vó Vermelha, **D** - Orelha de Vó, **E** - Preta, **F** - Rainha, **G** - Rixinou, **H** - Roxinha M, **I** - Roxinha. Barra de escala em I corresponde a 5  $\mu$ m.



**Figura 4.** Padrão de bandas CMA/DAPI (A) e cariograma (B) de *Phaseolus lunatus* L.

**Tabela 1.** Variedades crioulas de *Phaseolus lunatus* L., características morfológicas, procedência, número cromossômico ( $2n$ ), índice centromérico (IC), tamanho médio, padrão de heterocromatina e figuras correspondentes. Tamanho da semente: P - pequena (< 10mm), G - grande (> 10mm); Padrão de heterocromatina: Ter (terminal), Per (pericentromérica).

| Variedades            | Tamanho da semente | Cor predominante da semente  | Procedência     | $2n$ | Tamanho médio ( $\mu\text{m}$ ) | IC    | Padrão de heterocromatina                        | Figuras |
|-----------------------|--------------------|------------------------------|-----------------|------|---------------------------------|-------|--------------------------------------------------|---------|
| Angico                | P                  | Marrom                       | Queimadas, PB   | 22   | 2,70                            | 45,40 | 2Ter e 22Per CMA <sup>+</sup> /DAPI <sup>-</sup> | 1A, 2A  |
| Baia de Moita         | P                  | Marrom                       | Queimadas, PB   | 22   | 1,56                            | 44,11 | 2Ter e 22Per CMA <sup>+</sup> /DAPI <sup>-</sup> | 1B, 2B  |
| Cancão                | P                  | Maculada (branca e vermelha) | Queimadas, PB   | 22   | 1,45                            | 55,13 | 2Ter e 22Per CMA <sup>+</sup> /DAPI <sup>-</sup> | 1C, 2C  |
| Carrapato             | P                  | Marrom escura                | Queimadas, PB   | 22   | 1,90                            | 41,33 | 2Ter e 22Per CMA <sup>+</sup> /DAPI <sup>-</sup> | 1D, 2D  |
| Cearense              | P                  | Marrom clara                 | Queimadas, PB   | 22   | 2,70                            | 45,14 | 2Ter e 22Per CMA <sup>+</sup> /DAPI <sup>-</sup> | 1E, 2E  |
| Coquinha              | P                  | Branca                       | Queimadas, PB   | 22   | 1,54                            | 43,11 | 2Ter e 22Per CMA <sup>+</sup> /DAPI <sup>-</sup> | 1F, 2F  |
| Eucalipto             | P                  | Branca                       | Queimadas, PB   | 22   | 2,50                            | 45,11 | 2Ter e 22Per CMA <sup>+</sup> /DAPI <sup>-</sup> | 1G, 2G  |
| Fava Feijão           | P                  | Marrom                       | Queimadas, PB   | 22   | 1,34                            | 40,41 | 2Ter e 22Per CMA <sup>+</sup> /DAPI <sup>-</sup> | 1H, 2H  |
| Lua Nova              | P                  | Maculada (branca e vermelha) | Queimadas, PB   | 22   | 2,41                            | 53,12 | 2Ter e 22Per CMA <sup>+</sup> /DAPI <sup>-</sup> | 1I, 2I  |
| Manteiga              | P                  | Branca                       | Queimadas, PB   | 22   | 1,52                            | 36,53 | 2Ter e 22Per CMA <sup>+</sup> /DAPI <sup>-</sup> | 1J, 2J  |
| Miúda                 | P                  | Marrom-avermelhada           | Sertãozinho, PB | 22   | 1,52                            | 39,01 | 2Ter e 22Per CMA <sup>+</sup> /DAPI <sup>-</sup> | 1K, 3A  |
| Olho de Ovelha        | G                  | Branca                       | Queimadas, PB   | 22   | 2,42                            | 64,31 | 2Ter e 22Per CMA <sup>+</sup> /DAPI <sup>-</sup> | 1L, 3B  |
| Orelha de Vó Vermelha | G                  | Branca                       | Queimadas, PB   | 22   | 4,02                            | 44,41 | 2Ter e 22Per CMA <sup>+</sup> /DAPI <sup>-</sup> | 1M, 3C  |
| Orelha de Vó Preta    | G                  | Branca                       | Queimadas, PB   | 22   | 2,34                            | 63,54 | 2Ter e 22Per CMA <sup>+</sup> /DAPI <sup>-</sup> | 1N, 3D  |
| Rainha                | G                  | Preta                        | Queimadas, PB   | 22   | 2,10                            | 46,11 | 2Ter e 22Per CMA <sup>+</sup> /DAPI <sup>-</sup> | 10, 3E  |
| Rixinou               | G                  | Maculada (branca e roxa)     | Queimadas, PB   | 22   | 1,53                            | 39,32 | 2Ter e 22Per CMA <sup>+</sup> /DAPI <sup>-</sup> | 1P, 3F  |
| Rixinou               | G                  | Branca                       | Queimadas, PB   | 22   | 1,23                            | 26,42 | 2Ter e 22Per CMA <sup>+</sup> /DAPI <sup>-</sup> | 1Q, 3G  |
| Roxinha M             | P                  | Roxa                         | Queimadas, PB   | 22   | 2,34                            | 51,44 | 2Ter e 22Per CMA <sup>+</sup> /DAPI <sup>-</sup> | 1R, 3H  |
| Roxinha               | P                  | Rosa                         | Queimadas, PB   | 22   | 2,31                            | 50,34 | 2Ter e 22Per CMA <sup>+</sup> /DAPI <sup>-</sup> | 1S, 3I  |

**Potencial genético em sementes crioulas de *Phaseolus lunatus* L.**

(A ser submetido ao periódico - Revista Agropecuária Brasileira)

### Potencial genético em sementes crioulas de *Phaseolus lunatus* L.

**Resumo** - No Brasil o gênero *Phaseolus* é um dos pilares na agricultura diante sua relevância para a segurança alimentar e nutricional de maioria da população, principalmente os mais necessitados, portanto estudos de conservação são de extrema importância para conservação desse gênero. O objetivo com esse estudo foi analisar a diversidade genética de sementes de variedades crioulas de *Phaseolus lunatus*, através de análises uni e multivariadas. Foram utilizadas sementes de 29 variedades crioulas de *P. lunatus*, adquiridas de produtores familiares, da Paraíba estas foram caracterizadas com base em descritores quali e quantitativos, como: comprimento, largura, espessura, padrão do tegumento, forma das sementes, cor de fundo, cor padrão e segunda cor padrão. Foi utilizado, o delineamento experimental utilizado foi inteiramente ao acaso, com 29 tratamentos e 10 repetições, foi realizada análise de variância com posterior agrupamento de médias pelo critério de Scott-Knott a 5% de probabilidade. Os parâmetros genéticos foram calculados com base na análise genética de médias e variâncias. A análise multivariada foi realizada através distância generalizada Mahalanobis ( $D^2$ ), método de agrupamento de Tocher, método hierárquico conhecido como UPGMA. A estimativa da herdabilidade foi acima de 90% para todas as características analisadas. A distância generalizada de Mahalanobis, mostrou que as maiores distâncias ocorreram entre as variedades Carrapato e Miúda; Orelha de Vó e Miúda; Orelha de Vô e Coquinho Moita Vermelha; Roxinou e Miúda; Sinhazinha e Coquinho Moita Vermelha. As variedades de *P. lunatus* indicadas pelo método UPGMA são Coquinho Moita Vermelha, Miúda, Mulatinha, Sangue de Boi, Eucalipto, Boca de Moça Vermelha, Orelha de Vó Vermelha e Orelha de Vô. Por meio do agrupamento de Tocher foram formados dez grupos, onde houve uma concentração de variedades no primeiro, segundo, terceiro e quinto grupo, este indica que a combinação das variedades Branca, Manteiga, Orelha de Vó e Orelha de Vô como progenitores para o melhoramento. Pelo agrupamento por meio da distância de Gower observou-se formados em 6 grupos: o maior grupo foi composto com 22 variedades são semelhantes quanto as características estudadas indicando as variedades Fava Feijão, Branca e Miúda. A análise de variância evidenciou que há variabilidade genética entre as variedades crioulas de *Phaseolus lunatus* L., para todas as características avaliadas. As variedades mais dissimilares foram Carrapato e Miúda, Orelha de Vó e Miúda; Orelha de Vô e Coquinho Moita Vermelha, Rixinou e Miúda, Sinhazinha e Coquinho Moita Vermelha. As variáveis que mais contribuíram para a divergência genética entre as variedades crioulas de *P. lunatus* foram comprimento, largura, forma e padrão de tegumento das sementes. As variedades Orelha de Vô, Orelha de Vó, Raio de Sol, Coquinho, Fava Feijão, Coquinho Moita Vermelha e Miúda são as indicadas para obtenção de genótipos superiores em programas de melhoramento interpopulacional.

Palavra-chave: herdabilidade, diversidade genética, conservação.

**Abstract** – Conservation of the traditional cultures distributed through Brazilian regions faces several challenges, requiring all diversity knowledge. The following variables were measured: quantitative - length, width, thickness, tegument pattern, seed shape; qualitative - background color, standard color, second standard color. The experimental design was completely randomized, with 29 treatments and 10 repetitions. Analysis of variance was performed with the subsequent grouping of means by the Scott-Knott criterion at a 5% probability. The genetic parameters were calculated based on the genetic analysis of means and variances. Multivariate analysis through generalized Mahalanobis distance ( $D^2$ ), Tocher's grouping method, hierarchical method known as UPGMA. The heritability estimate was over 90% for all characteristics analyzed. The generalized Mahalanobis distance showed that the greatest distances occurred between the Carrapato e Miúda; Orelha de Vó e Miúda; Orelha de Vô e Coquinho Moita Vermelha; Roxinou e Miúda; Sinhazinha e Coquinho Moita Vermelha. The varieties of *P. lunatus* indicated by the UPGMA method are Coquinho Moita Vermelha, Miúda, Mulatinha, Sangue de Boi, Eucalipto, Boca de Moça Vermelha, Orelha de Vó Vermelha e Orelha de Vô. Through the Tocher grouping ten groups were formed, where there was a concentration of varieties in the first, second, third and fifth groups, this indicates that the combination of varieties Branca, Manteiga, Orelha de Vó e Orelha de Vô as parents the improvement. By grouping through the Gower distance, 6 groups were formed: the largest group was composed of 22 varieties that are similar in terms of the characteristics studied indicating the varieties Fava Feijão, Branca e Miúda. The analysis of variance showed that there is genetic variability among the landraces varieties of *Phaseolus lunatus* L., for all the characteristics evaluated. The most dissimilar varieties foram Carrapato e Miúda, Orelha de Vó e Miúda; Orelha de Vô e Coquinho Moita Vermelha, Rixinou e Miúda, Sinhazinha e Coquinho Moita Vermelha. The variables that most contributed to the genetic divergence between the creole varieties of *P. lunatus* were length, width, shape and seed coat pattern. The varieties Orelha de Vô, Orelha de Vó, Raio de Sol, Coquinho, Fava Feijão, Coquinho Moita Vermelha e Miúda are the ones indicated for obtaining superior genotypes in interpopulation breeding program.

Keyword: heritability, genetic diversity, conservation.

## Introdução

Atualmente a conservação da biodiversidade representa um dos maiores desafios, devido à crescente demanda da sociedade por recursos naturais e espaço físico (Machado et al., 2019). A conservação e manutenção desse patrimônio genético tem sido realizada, principalmente, por meio da coleta e armazenamento de sementes em bancos de germoplasma (Coelho et al., 2010), garantindo que o patrimônio genético não seja perdido ao longo dos anos (Nascimento & Ferreira, 2017), mas não viabiliza o uso destes genótipos.

Com o intuito de indicar os genótipos mais promissores, é necessário conduzir estudos para diferenciá-los quanto a cor, formato, potencial produtivo, qualidade fisiológica e sanitária das sementes, resistência e adaptação, o que irá potencializar o uso das sementes pelo agricultor familiar e também pelos órgãos de pesquisa, além de servir de base a futuros programas de melhoramento.

A conservação da diversidade genética de *Phaseolus lunatus* L., em bancos de germoplasma ocorre principalmente nos Estados Unidos, México e Colômbia (Nascimento & Ferreira, 2017). No Brasil, existem cerca de 363 acessos de *P. lunatus* conservados, caracterizados e multiplicados na coleção ativa da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia (Cenargen). A maior parte desses acessos são duplicatas procedentes de coletas realizadas por instituições em diversas regiões do Brasil, além de expedições dos próprios pesquisadores da Embrapa (Moraes et al., 2017).

No Nordeste brasileiro a fava tem grande importância devido à sua rusticidade, permitindo uma colheita prolongada em período seco (Azevedo et al., 2003). Para implantação das lavouras em regiões semiáridas, onde os índices pluviométricos são abaixo da média com demanda evaporativa alta, tal característica é fundamental (Borém & Ramalho, 2011).

No Brasil o gênero *Phaseolus* é um dos pilares na agricultura devido ser relevante na segurança alimentar e nutricional da maioria dos brasileiros, principalmente para os mais necessitados, portanto estudos de conservação são de extrema importância na conservação desse gênero (Barbosa & Gonzaga, 2012).

Para obtenção de uma descrição sobre a diversidade de variedades crioulas há necessidade de realizar análises morfológicas e genéticas, uma vez que a utilização da diversidade genética de modo eficiente, ocorre através da caracterização que tem por

finalidade descrever, identificar e diferenciar os acessos das espécies, classes ou categorias (Vicente et al., 2005).

Estudos referentes a morfologia de sementes para compreensão da diversidade genética, podem avaliar simultaneamente vários caracteres, os quais são interpretados por meio de análises multivariadas (Elias et al., 2007). Com estudos dessa natureza almeja-se, garantir a segurança alimentar para nações futuras e disponibilizar informações que auxiliem os melhoristas quanto à seleção de genitores.

No presente trabalho o objetivo foi analisar a diversidade genética de sementes de variedades crioulas de *Phaseolus lunatus*, através de análises uni e multivariadas.

## Material e Métodos

Sementes de 29 variedades crioulas de *P. lunatus* (Tabela 1 e Figura 1) foram adquiridas de produtores familiares, as quais estavam armazenadas em garrafas de polietileno tereftalato (PETs) contendo cascas de laranja (*Citrus sinensis* L. Osbeck), bulbilho de alho (*Allium sativum* L.) e pimenta do reino (*Piper nigrum* L.) e transportadas até o Laboratório de Análises de Sementes do Centro de Ciências Agrárias, da Universidade Federal da Paraíba, onde foram caracterizadas.

Tabela 1. Variedades e Procedência de sementes crioulas de *Phaseolus lunatus* L.

| Variedades | Nome popular          | Procedência   | Variedades | Nome popular            | Procedência       |
|------------|-----------------------|---------------|------------|-------------------------|-------------------|
| 1          | Orelha de Vó Vermelha | Queimadas, PB | 16         | Cancão                  | Queimadas, PB     |
| 2          | Rixinou               | Queimadas, PB | 17         | Preta                   | Queimadas, PB     |
| 3          | Angico                | Queimadas, PB | 18         | Roxinha                 | Queimadas, PB     |
| 4          | Eucalipto             | Queimadas, PB | 19         | Fava Feijão             | Queimadas, PB     |
| 5          | Orelha de Vó          | Queimadas, PB | 20         | Rainha                  | Queimadas, PB     |
| 6          | Baia de Moita         | Queimadas, PB | 21         | Sangue de Boi           | Queimadas, PB     |
| 7          | Lua Nova              | Queimadas, PB | 22         | Boca de Moça Vermelha   | Queimadas, PB     |
| 8          | Mulatinha             | Queimadas, PB | 23         | Moça Branca             | Queimadas, PB     |
| 9          | Cearense              | Queimadas, PB | 24         | Sinhazinha              | Queimadas, PB     |
| 10         | Raio de Sol           | Queimadas, PB | 25         | Carrapato               | Queimadas, PB     |
| 11         | Orelha de Vó          | Queimadas, PB | 26         | Coquinho Moita Vermelha | Queimadas, PB     |
| 12         | Olho de Ovelha        | Queimadas, PB | 27         | Eucalipto PE            | Caruaru, PE       |
| 13         | Branca                | Queimadas, PB | 28         | Branca T2               | Alagoa Grande, PB |
| 14         | Coquinha              | Queimadas, PB | 29         | Miúda                   | Sertãozinho, PB   |
| 15         | Manteiga              | Queimadas, PB |            |                         |                   |



Figura 1. Sementes de variedades crioulas de *Phaseolus lunatus* L.

Após documentadas, as variedades foram caracterizadas para estudos das seguintes variáveis: quantitativas - comprimento, largura, espessura, padrão do tegumento e forma das sementes (Figura 2); qualitativas - cor de fundo, cor padrão e segunda cor padrão, conforme o descritor International Institute of Plant Genetic Resources (Ipgri, 2001).

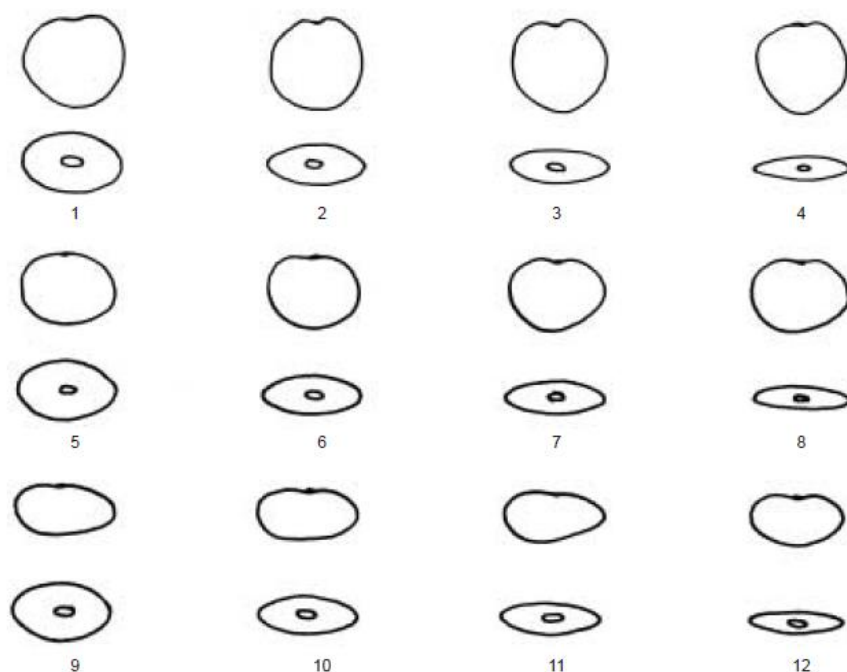


Figura 2. Forma da semente de *Phaseolus lunatus* L. de acordo com o IPGRI (2001).

#### Análise de dados

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente ao acaso, com 29 tratamentos e 10 repetições. Os dados foram submetidos a análise de variância, com posterior agrupamento de médias pelo critério de Scott-Knott a 5% de probabilidade. Também foram calculados parâmetros genéticos com base na análise genética de médias e variâncias, como coeficiente de determinação genotípica (herdabilidade) e coeficiente de variação genética.

Para os dados quantitativos, utilizou-se a medida de dissimilaridade baseada na distância generalizada de Mahalanobis ( $D^2$ ) (MAHALANOBIS, 1936). Com base nessa distância, a análise de divergência genética, foi estimada utilizando o método de agrupamento de otimização de Tocher, conforme Cruz et al. (2011). Além disso,  $D^2$  possibilitou quantificar a contribuição relativa dos caracteres para divergência genética utilizando o critério proposto por Singh (1981). Com base nas matrizes de distâncias genéticas geradas, foi construído o dendrograma, usando o método hierárquico de ligação média entre grupos não ponderado, conhecido como UPGMA.

Para os dados qualitativos adotou-se uma medida de dissimilaridade proposta por Gower (1971), a medida constitui-se de um coeficiente geral de similaridade que é aplicável simultaneamente aos vários tipos de características. Assim, foram obtidos valores de dissimilaridade, par de indivíduos, gerando a matriz de dissimilaridade, a

partir da qual ordenou-se os acessos em grupos, posteriormente, com a mesma matriz foi construído o dendrograma, usando método UPGMA.

A determinação do ponto de corte dos dendrogramas gerados pelos métodos hierárquicos, bem como a definição do número de grupos, foram estimados com base no método de Mojena (1977) baseado no tamanho relativo dos níveis de fusões (distâncias) no dendrograma. Após a aplicação de cada método de agrupamento hierárquico, para a estimativa do ajuste entre a matriz de dissimilaridade e o dendrograma gerado foi calculado o coeficiente de correlação cofenética (CCC) (Sokal & Rohlf, 1962), de acordo com a expressão proposta por Bussab et al. (1990) e citado por Albuquerque (2005). As análises estatísticas foram realizadas através do software Genes (Cruz, 2013) e R versão 3.0.3 (R Core Team, 2014).

## Resultados e Discussão

De acordo com análise de variância para as características quantitativas analisadas em 29 variedades crioulas de *P. lunatus* foi observado diferença significativa para todas as variáveis (Tabela 2). Essa diferença entre as variedades pode garantir a perpetuação da espécie em condições adversas, uma vez que essa variação ocorre devido às adaptações particulares e específicas que são produtos de um conhecimento ecológico sobre as condições locais onde os agricultores mantêm e manejam toda esta diversidade de variedades (Toledo & Barrera-Bassols, 2015).

Para a variância fenotípica observou-se valores variando de 0,45 a 14 para as variáveis espessura e padrão do tegumento, consecutivamente, uma vez que a variância ambiental teve uma variação de 0,01 (padrão do tegumento e forma da semente) a 0,13 (comprimento). A variância genotípica foi de 0,41 a 14,40 para as características padrão do tegumento e forma da semente respectivamente (Tabela 2). O valor da variância fenotípica da característica padrão do tegumento foi superior ao valor da variância genética, indicando que a caracterização dessa possui influência ambiental. Valores de variância fenotípica e genotípica superiores a 20% são considerados altos, enquanto valores inferiores a 10% são considerados baixos e valores entre 10 e 20% médios (Deshmukh et al., 1986).

Os valores do coeficiente de variação genética (CVg) oscilaram de 11,39 a 94,46%, o menor e o maior valor foram obtidos nas variáveis espessuras e padrão do tegumento (Tabela 2). O coeficiente de variação genética é considerado um parâmetro importante no entendimento da estrutura genética de uma população por evidenciar a

variação existente entre progênie e permitir as estimativas de ganhos genéticos (Ferreira et al., 2016). Desta maneira, em valores acima de 50% a seleção individual carrega consigo excelente controle genético, garantindo a nível de indivíduo e progênie, ganhos genéticos significativos e possibilidades excelentes para seleção (Assunção et al., 2015). Com base na premissa do coeficiente de variação, a característica recomendada para seleção das variedades de fava é o padrão do tegumento.

A razão entre o coeficiente de variação genética (CVg) e o coeficiente de variação ambiental (CVe) foi de 1,05 a 8,87 % (Tabela 2). Essa razão indica que as características estudadas nos níveis genotípico e fenotípico são de interesse prático em um programa de melhoramento, uma vez que a seleção de uma característica pode causar melhoria ou deterioração em uma característica associada (Asfaw et al., 2017).

Tabela 2. Quadrados médios da análise de variância conjunta entre as variedades de *Phaseolus lunatus* L.

| FV               | Quadrados Médios |          |         |        |          |         |
|------------------|------------------|----------|---------|--------|----------|---------|
|                  | GL               | C        | L       | E      | PT       | FS      |
| Variedades       | 28               | 86,61 ** | 28,22** | 4,55** | 144,18** | 28,03** |
| Resíduo          | 261              | 1,33     | 0,67    | 0,37   | 0,18     | 0,09    |
| Cv (%)           |                  | 8,44     | 8,50    | 10,80  | 10,64    | 3,03    |
| S <sup>2</sup> F |                  | 8,66     | 2,82    | 0,45   | 14,41    | 2,80    |
| S <sup>2</sup> A |                  | 0,13     | 0,06    | 0,03   | 0,01     | 0,01    |
| S <sup>2</sup> G |                  | 8,52     | 2,75    | 0,41   | 14,40    | 2,79    |
| h <sup>2</sup>   |                  | 98,43    | 97,62   | 91,74  | 99,87    | 99,65   |
| CVg              |                  | 21, 16   | 17,23   | 11,39  | 94,46    | 16,40   |
| CVg/CVe          |                  | 2,5      | 2,02    | 1,05   | 8,87     | 5,4     |

\*\* significativo a 1% pelo teste F.

Comprimento (C), largura (L), espessura (E), padrão do tegumento (PT) e forma das sementes (FS).

Coeficiente de variação (Cv), variância fenotípica (S<sup>2</sup>F), variância ambiental (S<sup>2</sup>A), variância genotípica (S<sup>2</sup>G), herdabilidade (h<sup>2</sup>), coeficiente de variação genético (CVg), razão entre coeficientes de variação genético e ambiental (CVg/CVe).

A estimativa da herdabilidade (h<sup>2</sup>) foi alta para todas as características estudadas, variando entre 91,74 e 99,87% (Tabela 2). A herdabilidade pode ser classificada como baixa para valores entre (0,01 ≤ h<sup>2</sup> a ≤ 0,15), média para valores entre (0,15 < h<sup>2</sup> a < 0,50), e alta para valores entre (h<sup>2</sup> a ≥ 0,50) (Resende, 2015), o sucesso da seleção está diretamente proporcional ao aumento da herdabilidade, ou seja, quanto maior for a estimativa da herdabilidade maior será a probabilidade de realização de uma seleção eficaz (Cruz et al., 2012). As características como comprimento, largura, espessura, forma e padrão de sementes foram importantes porque demonstraram alta herdabilidade e uma razão cvg/cve maior que 1 (Tabela 2).

As sementes da variedade Orelha de Vô foram aquelas com maior comprimento (21,64 mm) e largura (14,72 mm); para a característica espessura da semente, as variedades Cearense e Rainha obtiveram os seguintes valores: 6,72 e 7,03 mm respectivamente (Tabela 3), consideradas sementes grandes de acordo com a classificação de Guimarães et al. (2007). O tamanho das sementes é uma característica importante do ponto de vista de desenvolvimento fisiológico da cultura, uma vez que foi comprovado que plantas bem desenvolvidas são oriundas de sementes maiores (Dobert & Blevins, 1993). As sementes maiores quando comparadas com às menores têm embriões com melhor formação, maiores quantidades de reservas consecutivamente melhor desenvolvimento na germinação e um melhor vigor (Cangussú et al., 2013).

O padrão do tegumento foi maior nas sementes da variedade Orelha de Vô, com uma descrição de corpo dispersamente marmoreado, sendo classificada no grupo F1 (Tabela 3), de acordo com o descrito Ipgri (2001). O padrão do tegumento da semente é a forma de como estão dispostas as cores distintas no mesmo (Guimarães et al., 2007), o qual é importante porque os agricultores apreciam sementes de fava através dos padrões e cores das variedades locais. Nos padrões de cores do tegumento e nas formas das sementes de fava há uma grande variedade, representando um incentivo para o consumo (Silva et al., 2015).

Para a característica forma da semente, sete variedades obtiveram nota 12 (Figura 2) característica esta que menos diferenciou as variedades (Tabela 3). Ainda assim, é importante estudar as formas das sementes porque esta característica pode influenciar a germinação das sementes e vigor das plântulas (Hai-yan et al., 2016; Liang et al., 2016).

Tabela 3. Teste de Médias das características em variedades crioulas de *Phaseolus lunatus* L., comprimento, largura, espessura, padrão do tegumento e forma da semente.

| Variedades | Características |         |        |      |      |
|------------|-----------------|---------|--------|------|------|
|            | C               | L       | E      | PT   | FS   |
| 1          | 15,69 c         | 10,57 c | 5,93 b | 8 d  | 10 c |
| 2          | 11,79 g         | 8,98 d  | 4,64 d | 7 e  | 12 a |
| 3          | 14,20 e         | 8,80 d  | 5,70 c | 0 k  | 9 d  |
| 4          | 12,32 f         | 8,89 d  | 6,39 b | 6 f  | 12 a |
| 5          | 21,64 a         | 14,72 a | 5,69 c | 9 c  | 11 b |
| 6          | 11,49 g         | 7,61 e  | 5,48 c | 0 k  | 10 c |
| 7          | 14,22 e         | 9,26 d  | 3,98 d | 7 e  | 11 b |
| 8          | 16,56 c         | 11,20 b | 6,02 b | 8 d  | 10 c |
| 9          | 17,02 c         | 11,89 b | 5,47 c | 0 k  | 12 a |
| 10         | 12,93 f         | 9,57 d  | 6,72 a | 0 k  | 10 c |
| 11         | 18,98 b         | 11,78 b | 6,16 b | 5 g  | 11 b |
| 12         | 16,91 c         | 11,39 b | 5,49 c | 11 a | 9 d  |
| 13         | 11,23 g         | 8,15 e  | 5,70 c | 6 f  | 12 a |
| 14         | 15,08 d         | 10,16 c | 5,56 c | 0 k  | 12 a |
| 15         | 9,85 h          | 7,85 e  | 6,30 b | 7 e  | 9 d  |
| 16         | 11,86 g         | 8,99 d  | 6,23 b | 5 g  | 11 b |
| 17         | 11,96 g         | 7,77 e  | 5,31 c | 9 c  | 10 c |
| 18         | 15,08 d         | 11,50 b | 6,23 b | 0 k  | 8 e  |
| 19         | 11,48 g         | 8,19 e  | 5,53 c | 0 k  | 12 a |
| 20         | 13,08 f         | 8,77 d  | 5,33 c | 7 e  | 11 b |
| 21         | 18,46 b         | 11,82 b | 7,03 a | 7 e  | 10 c |
| 22         | 11,99 g         | 8,45 e  | 5,08 c | 5 g  | 10 c |
| 23         | 15,40 d         | 10,55 c | 5,72 c | 2 i  | 12 a |
| 24         | 10,92 g         | 8,48 e  | 5,27 c | 0 k  | 9 d  |
| 25         | 13,86 e         | 9,14 d  | 4,17 d | 10 b | 10 c |
| 26         | 9,59 h          | 7,70 e  | 6,13 b | 2i   | 6 f  |
| 27         | 12,30 f         | 9,27 d  | 5,32 c | 4 h  | 10 c |
| 28         | 14,23 e         | 9,85 d  | 5,52 c | 0 k  | 11 b |
| 29         | 9,59 h          | 7,93 e  | 6,27 b | 0 k  | 5 g  |

Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas nas colunas não diferem entre si, pelo teste de Scoott-Knott a 5 % probabilidade. Em que 1 - Orelha de Vó Vermelha, 2 - Rixinou, 3 - Angico, 4 - Eucalipto, 5 - Orelha de Vô, 6 - Mulatinha, 7 - Baia Moita, 8 - Lua Nova, 9 - Sangue de Boi, 10 - Cearense, 11 - Raio de Sol, 12 - Orelha de Vó, 13 - Olho de Ovelha, 14 - Branca, 15 - Coquinha, 16 - Manteiga, 17 - Cancão, 18 - Preta, 19 - Roxinha, 20 - Fava Feijão, 21 - Rainha, 22 - Boca de Moça Vermelha, 23 - Moça Branca, 24 - Sinhazinha, 25 - Carrapato, V26 - Coquinho Moita Vermelha, 27 - Eucalipto PE, 28 - Branca T2, 29 - Miúda. Comprimento (C), largura (L), espessura (E), padrão do tegumento (PT) e forma da semente (FS).

Com base nas distâncias entre as variedades obtidas utilizando a distância generalizada de Mahalanobis, observa-se que as maiores distâncias ocorreram entre as variedades Carrapato e Miúda (1091,7); Orelha de Vó e Miúda (1086,34); Orelha de Vô e Coquinho Moita Vermelha (1076,3); Roxinou e Miúda (1054,01); Sinhazinha e Coquinho Moita Vermelha (942,97) (Tabela 4). As variedades identificadas com elevadas distâncias genéticas, podem ser utilizadas para ajudar no desenvolvimento de

linhagens superiores de alto rendimento ou no aumento da diversidade genética de *Phaseolus* e em outras leguminosas (Bhaganna et al., 2017).

Pelo método de otimização de Tocher (Tabela 5) ocorreu a formação de dez grupos distintos, onde houve uma concentração nos grupos da seguinte maneira: o primeiro e o quinto foram compostos com cinco variedades; o segundo (com quatro variedades); e o terceiro grupo houve uma maior concentração com seis variedades. O grupo 4 foi formado pelas variedades Boca de Moça Vermelha e Eucalipto PE essas possuem maior proximidade, devido ao tamanho. No grupo 6 estão as variedades Mulatinha e Miúda estas possuem tamanho e padrão de tegumento semelhantes. As variedades presentes nos grupos: sete (Coquinha), oito (Raio de Sol), nove (Orelha de Vó) e dez (Orelha de Vô) na tabela 5, demonstraram características únicas de tamanho e padrão do tegumento, em que consecutivamente são diferenciadas nos grupos: auréolos semelhante ao padrão (E2), distinto com muitos sinais no corpo (C2), distinto com manchas em mais de 50% (D2), corpo dispersante marmoreado (F1) e auréolo semelhante ao padrão, maculado na região do hilo, corpo com bandas radiadas a partir da região do hilo (E4), de acordo com o descrito em Ipgri (2001).

No método de Tocher usufrui-se de uma matriz de dissimilaridade, sobre a qual identifica-se o par de genótipos mais correlatos, os quais formarão o grupo inicial e podem dar continuidade a introdução de novos genótipos (Cruz et al., 2012). Devem ser selecionadas as variedades Orelha de Vó Vermelha, Eucalipto, Coquinha, Raio de sol Manteiga, Orelha de Vó e Orelha de Vô.

Quando ocorre a classificação de variedades em grupos relativamente distantes há indicação de que as mesmas são diferentes, propondo combinações promissoras para cruzamentos (Silva et al., 2015), porém além de sua dissimilaridade, as variedades necessitam altos valores médios e variabilidade para as características selecionadas (Abreu et al., 2004). Grupos com pares como mesmo padrão de similaridade, em programas de melhoramento genético, devem ser evitados, para que a variabilidade genética necessária em qualquer programa de melhoramento, não seja restrita, de modo a impedir os ganhos a serem obtidos por seleção (Santos et al., 2014). O referente estudo indica a combinação das variedades Branca, Manteiga, Orelha de Vó e Orelha de Vô como progenitores para o melhoramento.

O método UPGMA, admitiu o limite máximo 22% de dissimilaridade entre variedades formando 5 grupos, diferente do método de Tocher uma vez que, os números de grupos formados foram distintos (Figura 3). Esta diferença ocorre por conta da

maneira distinta de cada método realizar o cálculo da variabilidade genética (Büttow et al., 2010).

O método UPGMA permite o estabelecimento dos grupos de forma que haja heterogeneidade e homogeneidade entre e dentro grupos, os dendrogramas são construídos por meio de modelos ajustados de menor dissimilaridade (Cruz & Carneiro, 2003). Os grupos formados caracterizam a divergência genética entre as variedades, possibilitam aos melhoristas alternativas de cruzamento entre as variedades dos diferentes grupos, visando à complementação da característica na descendência (Resende et al., 2014).

Neste estudo houve separação das variedades em grupos devido à sua heterogeneidade, o que segundo Rosa et al. (2019) é de grande interesse para programas de melhoramento genético, variedades distantes entre si. Dessa forma, é de interesse cruzar bons materiais e ao mesmo tempo divergentes para que haja a identificação de variedades produtivas que se complementem, fazendo uso da fração não aditiva existente na variância genética (Nascimento et al., 2014). As variedades de *P. lunatus* indicadas pelo método UPGMA são Coquinho Moita Vermelha, Miúda, Mulatinha, Sangue de Boi, Eucalipto, Boca de Moça Vermelha, Orelha de Vó Vermelha e Orelha de Vô.

Tabela 4. Distância de Mahalanobis entre as variedades crioulas de *Phaseolus lunatus* L.

| V  | 1 | 2  | 3     | 4    | 5      | 6      | 7      | 8      | 9      | 10     | 11     | 12     | 13     | 14     | 15     | 16     | 17     | 18     | 19    | 20     | 21     | 22     | 23     | 24     | 25     | 26     | 27     | 28     | 29      |
|----|---|----|-------|------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|-------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|---------|
| 1  | 1 | 54 | 392,8 | 64,1 | 61,31  | 379,65 | 28,48  | 0,71   | 366,87 | 372,15 | 69,92  | 56,88  | 68,81  | 369,64 | 53,51  | 63,04  | 18,61  | 439,77 | 373,6 | 300,08 | 15,42  | 61,53  | 219,86 | 418,33 | 31,38  | 708,42 | 99,29  | 353,57 | 848,34  |
| 2  |   | 1  | 424,8 | 15,7 | 99,26  | 369,25 | 15,44  | 58,69  | 302,22 | 378,9  | 73,84  | 172,11 | 11,98  | 288,62 | 122,19 | 50,23  | 60,23  | 520,42 | 285,6 | 260,75 | 77,36  | 869,78 | 153,24 | 451,69 | 78,36  | 869,78 | 118,27 | 312,52 | 1054,01 |
| 3  |   |    | 1     | 337  | 612,36 | 10,96  | 363,8  | 397,21 | 94,68  | 12,36  | 229,88 | 695,92 | 338,84 | 94,42  | 303,99 | 204,87 | 488,66 | 30,54  | 82,21 | 39,1   | 301,99 | 163,96 | 132,71 | 16,11  | 605,57 | 182,39 | 113,01 | 37,48  | 284,41  |
| 4  |   |    |       | 1    | 137,53 | 284,24 | 33,12  | 69,52  | 235,12 | 287,67 | 51,16  | 220,41 | 1,66   | 215,52 | 109,25 | 22,69  | 80,03  | 435,99 | 208,1 | 191,23 | 63,93  | 60,83  | 102,73 | 370,76 | 125,8  | 769,15 | 87,23  | 236,67 | 949,71  |
| 5  |   |    |       |      | 1      | 603,46 | 73,52  | 51,74  | 463,46 | 585,48 | 110,13 | 85,8   | 148,82 | 488,01 | 224,04 | 183,08 | 107,85 | 666,59 | 537,6 | 464,64 | 73,84  | 201,1  | 306,46 | 670,47 | 69,88  | 1076,3 | 248,44 | 511    | 1244,5  |
| 6  |   |    |       |      |        | 1      | 331,43 | 387,38 | 76,32  | 8,07   | 217,68 | 697,02 | 282,13 | 64,7   | 286,19 | 169,53 | 459    | 61,37  | 41,42 | 18,17  | 300,35 | 144,71 | 99,94  | 21,62  | 581,47 | 231,4  | 98,18  | 21,28  | 350,62  |
| 7  |   |    |       |      |        |        | 1      | 30,64  | 278,56 | 343,42 | 45,38  | 131,6  | 30,43  | 274,75 | 102,36 | 49,09  | 46,74  | 448,01 | 282,5 | 235,08 | 42,92  | 55,54  | 145,25 | 399,07 | 56,42  | 772,6  | 90,73  | 284,06 | 939,09  |
| 8  |   |    |       |      |        |        |        | 1      | 364,48 | 377,01 | 66,62  | 55,42  | 75,6   | 371,01 | 62,6   | 68,82  | 25,38  | 440,5  | 380,3 | 304,8  | 13,13  | 67,38  | 220,51 | 425,42 | 34,17  | 718,65 | 104,02 | 356,15 | 858,36  |
| 9  |   |    |       |      |        |        |        |        | 1      | 74,75  | 140,68 | 694,64 | 239,75 | 6,19   | 385,84 | 173,52 | 482,51 | 166,93 | 29,93 | 28,52  | 272,94 | 183,16 | 28,04  | 142,91 | 564,39 | 513,12 | 137,81 | 17,11  | 675,74  |
| 10 |   |    |       |      |        |        |        |        |        | 1      | 213    | 683,57 | 291,53 | 71,16  | 279,78 | 167,95 | 465,11 | 40,37  | 53,26 | 26,05  | 285,53 | 148,59 | 103,11 | 19,32  | 587,53 | 214,93 | 96,2   | 23,98  | 328,2   |
| 11 |   |    |       |      |        |        |        |        |        |        | 1      | 235,17 | 59,66  | 146,64 | 149,63 | 45,21  | 136,05 | 305,83 | 174,9 | 132,5  | 31,78  | 56,77  | 59,81  | 289,16 | 167,59 | 654,21 | 66,46  | 158,43 | 815,3   |
| 12 |   |    |       |      |        |        |        |        |        |        |        | 1      | 225,71 | 708,33 | 137,33 | 233,41 | 53,27  | 708,33 | 716,7 | 604,37 | 110,39 | 216,54 | 494,46 | 713,11 | 25,84  | 962,37 | 281,71 | 677,17 | 1086,34 |
| 13 |   |    |       |      |        |        |        |        |        |        |        |        | 1      | 217,71 | 108,7  | 23,89  | 78,21  | 441,83 | 206   | 190,53 | 74,84  | 58,65  | 105,93 | 368,38 | 123,13 | 768,4  | 86,51  | 238,1  | 949,97  |
| 14 |   |    |       |      |        |        |        |        |        |        |        |        |        | 1      | 374,09 | 160,55 | 469,13 | 185,67 | 11,56 | 19,8   | 280,72 | 176,2  | 23,01  | 142,44 | 563,27 | 520,54 | 135,47 | 14,28  | 689,44  |
| 15 |   |    |       |      |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        | 1      | 59,76  | 51,86  | 325,38 | 335,4 | 261,42 | 73,95  | 42,36  | 252,41 | 287,08 | 108,97 | 463,86 | 66,07  | 318,25 | 574,62  |
| 16 |   |    |       |      |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        | 1      | 91,9   | 269,3  | 144,9 | 113,05 | 51,14  | 13,51  | 74,79  | 219,88 | 153,15 | 529,65 | 22,66  | 150,71 | 681,09  |
| 17 |   |    |       |      |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        | 1      | 554,49 | 451,5 | 380,94 | 61,36  | 91,75  | 299,96 | 503,47 | 16,52  | 791,75 | 145,86 | 451,22 | 935,41  |
| 18 |   |    |       |      |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        | 1      | 174,6 | 108,66 | 347,73 | 212,37 | 222,98 | 19,78  | 666,19 | 105,91 | 148,1  | 99,6   | 178,56  |
| 19 |   |    |       |      |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        | 1     | 13,01  | 297,02 | 159,52 | 36,68  | 111,84 | 562,86 | 460,17 | 120,24 | 14,86  | 624,16  |
| 20 |   |    |       |      |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |       | 1      | 226,92 | 107,36 | 33,67  | 66,2   | 480,84 | 358,94 | 71,23  | 4,34   | 502,56  |
| 21 |   |    |       |      |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |       |        | 1      | 51,74  | 157,05 | 343,35 | 86,58  | 631,73 | 75,13  | 267,16 | 769,54  |
| 22 |   |    |       |      |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |       |        |        | 1      | 96,72  | 172,13 | 148,42 | 424,63 | 6,99   | 145,41 | 555,85  |
| 23 |   |    |       |      |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |       |        |        |        | 1      | 180,52 | 370,31 | 573,25 | 77,24  | 42,14  | 746,54  |
| 24 |   |    |       |      |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |       |        |        |        |        | 1      | 626,03 | 122,23 | 116,4  | 67,04  | 211,66  |
| 25 |   |    |       |      |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |       |        |        |        |        |        | 1      | 942,97 | 211,91 | 553,04 | 1091,7  |
| 26 |   |    |       |      |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |       |        |        |        |        |        |        | 1      | 354,43 | 362,93 | 12,68   |
| 27 |   |    |       |      |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |       |        |        |        |        |        |        |        | 1      | 99,53  | 480,07  |
| 28 |   |    |       |      |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |       |        |        |        |        |        |        |        |        | 1      | 505,77  |
| 29 |   |    |       |      |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |       |        |        |        |        |        |        |        |        |        | 1       |

Onde 1 - Orelha de Vó Vermelha, 2 - Rixinou, 3 - Angico, 4 - Eucalipto, 5 - Orelha de Vô, 6 - Mulatinha, 7 - Baia Moita, 8 - Lua Nova, 9 - Sangue de Boi, 10 - Cearense, 11 - Raio de Sol, 12 - Orelha de Vó, 13 - Olho de Ovelha, 14 - Branca, 15 - Coquinha, 16 - Manteiga, 17 - Cancão, 18 - Preta, 19 - Roxinha, 20 - Fava Feijão, 21 - Rainha, 22 - Boca de Moça Vermelha, 23 - Moça Branca, 24 - Sinhazinha, 25 - Carrapato, 26 - Coquinho Moita Vermelha, 27 - Eucalipto PE, 28 - Branca T2, 29 - Miúda.

Tabela 5. Agrupamento das variedades de crioulas de *Phaseolus lunatus* L. pelo método de Tocher.

| Grupo |    | Variedades |    |    |    |    |  |
|-------|----|------------|----|----|----|----|--|
| 1     | 1  | 8          | 7  | 17 | 25 |    |  |
| 2     | 4  | 13         | 2  | 16 |    |    |  |
| 3     | 20 | 28         | 19 | 14 | 9  | 23 |  |
| 4     | 22 | 27         |    |    |    |    |  |
| 5     | 6  | 10         | 3  | 24 | 18 |    |  |
| 6     | 26 | 29         |    |    |    |    |  |
| 7     | 15 |            |    |    |    |    |  |
| 8     | 11 |            |    |    |    |    |  |
| 9     | 12 |            |    |    |    |    |  |
| 10    | 5  |            |    |    |    |    |  |

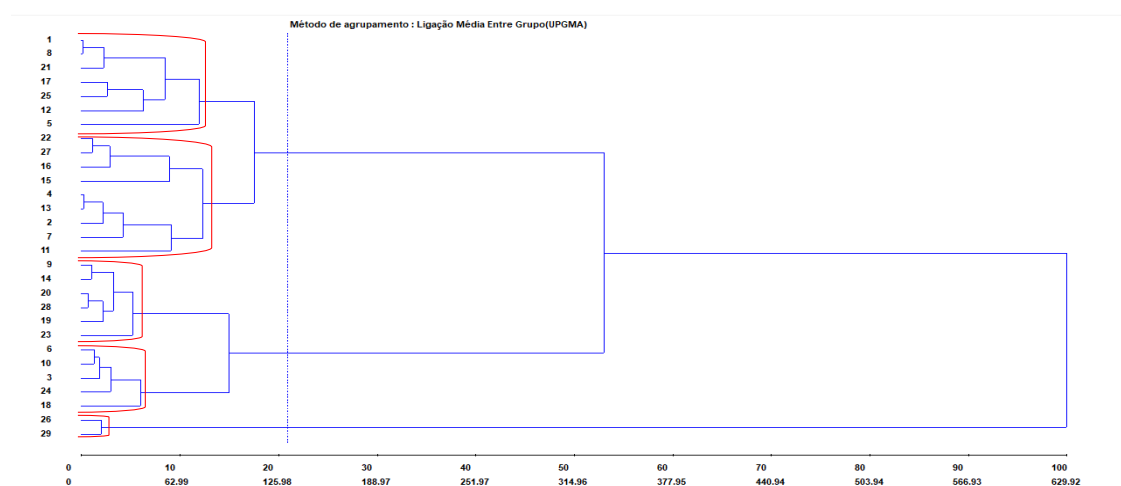


Figura 3. Dendrograma obtido pelo método UPGMA, baseado na distância generalizada de Mahalanobis de agrupamento das cultivares crioulas de *Phaseolus lunatus* L., pelo método UPGMA, sendo: 1 - Orelha de Vó Vermelha, 2 - Rixinou, 3 - Angico, 4 - Eucalipto, 5 - Orelha de Vó, 6 - Mulatinha, 7 - Baia Moita, 8 - Lua Nova, 9 - Sangue de Boi, 10 - Cearense, 11 - Raio de Sol, 12 - Orelha de Vó, 13 - Olho de Ovelha, 14 - Branca, 15 - Coquinha, 16 - Manteiga, 17 - Cancão, 18 - Preta, 19 - Roxinha, 20 - Fava Feijão, 21 - Rainha, 22 - Boca de Moça Vermelha, 23 - Moça Branca, 24 - Sinhazinha, 25 - Carrapato, 26 - Coquinho Moita Vermelha, 27 - Eucalipto PE, 28 - Branca T2, 29 - Miúda.

Para as variáveis qualitativas, foi realizado um agrupamento por meio da distância de Gower, neste, as 29 variedades crioulas de *P. lunatus* foram divididas em 6 grupos: o maior grupo foi composto com 22 variedades são semelhantes quanto as características estudadas, tendo como ponto de corte de mojena (0,187) e coeficiente de correlação cofenética (0,325). As variedades Fava Feijão, Branca e Miúda demonstraram características distintas das demais e entre si ficando isoladas (Figura 4).

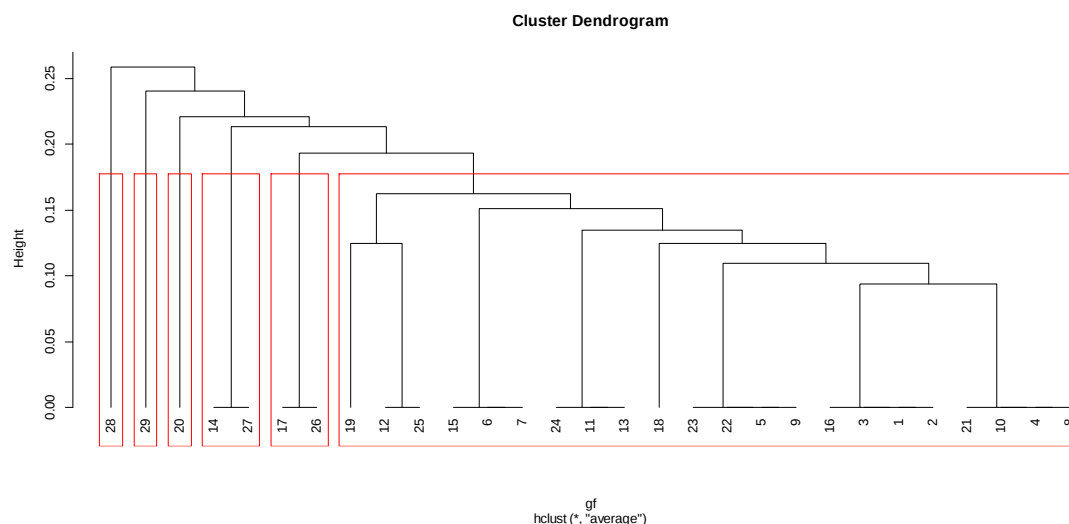


Figura 4. Dendrograma de dissimilaridades genéticas entre 29 variedades crioulas de *Phaseolus lunatus* L., obtido pelo método UPGMA com base no algoritmo de Gower, sendo: 1 - Orelha de Vó Vermelha, 2 - Rixinou, 3 - Angico, 4 - Eucalipto, 5 - Orelha de Vô, 6 - Mulatinha, 7 - Baia Moita, 8 - Lua Nova, 9 - Sangue de Boi, 10 - Cearense, 11 - Raio de Sol, 12 - Orelha de Vó, 13 - Olho de Ovelha, 14 - Branca, 15 - Coquinha, 16 - Manteiga, 17 - Cancão, 18 - Preta, 19 - Roxinha, 20 - Fava Feijão, 21 - Rainha, 22 - Boca de Moça Vermelha, 23 - Moça Branca, 24 - Sinhazinha, 25 - Carrapato, 26 - Coquinho Moita Vermelha, 27 - Eucalipto PE, 28 - Branca T2, 29 - Miúda.

De modo geral, dentre a diversidade existentes entre as variedades interessam aos melhoristas apenas aquelas superiores em relação às características mais importantes e com divergência suficiente para gerar variabilidade nas populações segregantes (Grigolo et al., 2018), distintos critérios de seleção são considerados, as previsões de ganho para cada critério são importantes para nortear o melhorista na utilização do material genético disponível, visando potencializar ganhos para as características de interesse (Paula et al., 2002). Com base nas qualidades qualitativas as variedades indicadas são Fava feijão, Branca e Miúda, para um possível programa de melhoramento.

## Conclusões

A análise de variância evidenciou que há variabilidade genética entre as variedades crioulas de *Phaseolus lunatus* L., para todas as características avaliadas.

As variedades mais dissimilares foram Carrapato e Miúda, Orelha de Vó e Miúda; Orelha de Vô e Coquinho Moita Vermelha, Rixinou e Miúda, Sinhazinha e Coquinho Moita Vermelha.

As variáveis que mais contribuíram para a divergência genética entre as variedades crioulas de *P. lunatus* foram comprimento, largura, forma e padrão de tegumento das sementes.

As variedades Orelha de Vô, Orelha de Vó, Raio de Sol, Coquinho, Fava Feijão, Coquinho Moita Vermelha e Miúda são as indicadas para obtenção de genótipos superiores em programas de melhoramento interpopulacional;

## Referências Bibliográficas

ABREU, F.B.; LEAL, N.R.; RODRIGUES, R.; AMARAL JÚNIOR, A.T.; SILVA, D.J.H. Divergência genética entre acessos de feijão-de-vagem de hábito de crescimento indeterminado. **Horticultura Brasileira**, v. 22, n. 3, p. 547-552, 2004.

ALBUQUERQUE, M.A. **Estabilidade em análise de agrupamento (cluster analysis)**. 2005. 62 f. Dissertação (Mestrado em Biometria) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2005.

ASFAW, A.; AMBACHEW, D.; SHAH, T.; BLAIR, M.W. Trait associations in diversity panels of the two common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) gene pools grown under well-watered and water-stress conditions. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, n. 733, p. 1-15, 2017.

ASSUNÇÃO, M.P.; KRAUSE, W.; DALLACORT, R.; SANTOS, P.R.J.; NEVES, L.G. Seleção individual de plantas de maracujazeiro azedo quanto à qualidade de frutos via REML/BLUP. **Revista Caatinga**, v. 28, n. 2, p. 57-63, 2015.

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

BARBOSA, F.R.; GONZAGA, A.C.O. **Informações técnicas para o cultivo do feijoeiro-comum na Região Central Brasileira: 2012-2014**. Embrapa Arroz e Feijão- Documentos (INFOTECA-E), 2012. 247 p.

BHAGANNA, H.P.M.; SALIMATH, T.S.; AGHORA, N.A. GANGA P.S. Genetic Diversity analysis by D<sup>2</sup> clustering of yield and yield attributing traits in French bean

(*Phaseolus vulgaris* L.) **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, v. 6, n. 6, p. 1331-1335, 2017.

BORÉM, A.; RAMALHO, M.A.P. Estresses abióticos: desafios do melhoramento de plantas nas próximas décadas. In: FRITSCHÉ-NETO, R.; BOREM, A. (eds.) **Melhoramento de plantas para condições de estresses abióticos**. Visconde do Rio Branco: Editora Suprema, 2011. p. 9-28.

BUSSAB, W.O. **Introdução à análise de agrupamentos**. ABE, 1990. 105 p.

BÜTTOW, M.V.; BARBIERI, R.L.; NEITZKE, R.S.; HEIDEN, G.; CARVALHO, F.I.F. Diversidade genética entre acessos de pimentas e pimentões da Embrapa Clima Temperado. **Ciência Rural**, v. 40, n. 6, p. 1264-1269, 2010.

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

COELHO, C.M.M.; MOTA, M.R.; SOUZA, C.A.; MIQUELLUTI, D.J. Potencial fisiológico em sementes de cultivares de feijão crioulo (*Phaseolus vulgaris* L.). **Revista Brasileira de Sementes**, v. 32, n. 3, p. 97-105, 2010.

CRUZ, C.D.; CARNEIRO, P.C.S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. 3.ed. Viçosa: UFV, 2014. v. 2, 668 p.

CRUZ, C.D.; REGAZZI, A.J.; CARNEIRO, P.C.S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. 4.ed. Viçosa: UFV, 2012. 514 p.

CRUZ, C.D.; CARNEIRO, P.C.S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. Viçosa: UFV, 2003. v. 2, 585 p.

CRUZ, C.D. Genes - a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. **Acta Scientiarum Agronomy**, v. 35, n. 3, p. 271-276, 2013.

CRUZ, C.D.; FERREIRA, F. M.; PESSONI, L.A. **Biometria aplicada ao estudo da diversidade genética**. Visconde do Rio Branco: Suprema, 2011. 620 p.

DESHMUKH, S.N.; BASU, M.S.; REDDY, P.S. **Genetic variability, character association and path coefficient analysis of quantitative traits in Virginia bunch varieties of groundnut**. **Indian Journal of Agricultural**, v. 56, n. 5, p. 816-821, 1986.

DOBERT, R.C.; BLEVINS, D.G. Effect of seed size and plant growth on nodulation and nodule development in lima bean (*Phaseolus lunatus* L.). **Plant and Soil**, v. 148, n. 1, p. 11-19, 1993.

ELIAS, T.H.; GONCALVES-VIDIGAL, M.C.; GONELA, A.; VOGT, G.A. Variabilidade genética em germoplasma tradicional de feijão-preto em Santa Catarina. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 42, n. 10, p. 1443-1449, 2007.

FERREIRA, M.G.; SALVADOR, F.V.; LIMA, M.N.R.; AZEVEDO, A.M.; LIMA NETO, I.S.; SOBREIRA, F.M.; SILVA, D.J.H. Parâmetros genéticos, dissimilaridade e

desempenho per se em acessos de abóbora. **Horticultura Brasileira**, v. 34, n. 4, p. 537-546, 2016.

GOWER, J.C. Discussion of a Paper by R. M. Cornarck. **Journal of the Royal Statistics Society (Series A)**, v. 134, p. 360-365, 1971.

GRIGOLO, S.; FIOREZE, A.C.C.L.; DENARDI, S.; VACARI, J. Implicações da análise univariada e multivariada na dissimilaridade de acessos de feijão comum. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v. 17, n. 3, p. 351-360, 2018.

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

HAI-YAN, B.; XUE-JING, W.; XIAN-HUI, Z.; WEI, Q.; KUN, L.; WEN-JING, G.; DANG-HUI, X.; SHI-TING, Z. The ecological and evolutionary significance of seed shape and volume for the germination of 383 species on the eastern Qinghai-Tibet plateau. **Folia Geobot**, v. 51, n. 1, p. 333-341, 2016.

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

LIANG, H.; XU, L.; YU, Y.; YANG, H.; DONG, W.; ZHANG, H. Identification of QTLs with main, epistatic and QTL by environment interaction effects for seed shape and hundred-seed weight in soybean across multiple years. **Journal of Genetics**, v. 95 n. 2, p. 475-477, 2016.

MACHADO, R.B.; RAMOS NETO, M.B.; LOURIVAL, R.; HARRIS, M. **A Abordagem dos Corredores de Biodiversidade para a Conservação dos Recursos Naturais**. Disponível e  
<[https://www.researchgate.net/profile/Ricardo\\_Machado13/publication/266468187\\_A\\_Abordagem\\_dos\\_Corredores\\_de\\_Biodiversidade\\_para\\_a\\_Conservacao\\_dos\\_Recursos\\_Naturais/links/553a78670cf29b5ee4b64c2e/A-Abordagem-dos-Corredores-de-Biodiversidade-para-a-Conservacao-dos-Recursos-Naturais.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Ricardo_Machado13/publication/266468187_A_Abordagem_dos_Corredores_de_Biodiversidade_para_a_Conservacao_dos_Recursos_Naturais/links/553a78670cf29b5ee4b64c2e/A-Abordagem-dos-Corredores-de-Biodiversidade-para-a-Conservacao-dos-Recursos-Naturais.pdf)> Acesso em 12 de Out. 2019.

MOJENA, R. Hierarchical grouping methods and stopping rules: an evaluation. **The Computer Journal**, v. 20, n. 4, p. 359-363, 1977.

MORAES, C.S.; DIAS, T.A.B.; COSTA, S.P.P.; VIEIRA, R.C.; NORONHA, S.E.; BURLE, M.L. **Catálogo de fava (*Phaseolus lunatus* L.) conservada na Embrapa**. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2017. 46 p.

NASCIMENTO, N.F.F.; FERREIRA, L.T. Melhoramento genético da fava. In: SOUZA, T. A. F.; SANTOS, D. (Org.). O AGRONEGÓCIO DA FAVA NO NORDESTE BRASILEIRO. 1ed., v. 1, p. 101-119, 2017.

NASCIMENTO, W.M.O.; GURGEL, F.L.; BHERING, L.L.; RIBEIRO, O.D. Pré-melhoramento do camucamuzeiro: estudo de parâmetros genéticos e dissimilaridade, **Revista Ceres**, v. 61, n. 4, p. 538-543, 2014.

PAULA, R.C.; PIRES, I.E.; BORGES, R.C.G.; CRUZ, C.D. Predição de ganhos genéticos em melhoramento florestal. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 37, n. 2, p. 159-165, 2002.

RESENDE, M.A.V.; FREITAS, J.A.; LANZA, M.A.; RESENDE, M.D.V.; AZEVEDO, C.F. Divergência genética e índice de seleção via BLUP em acessos de algodoeiro para características tecnológicas da fibra. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 44, n. 3, p. 334-340, 2014.

RESENDE, M.D.V. **Genética quantitativa e de populações**. Viçosa: Suprema, 2015.

ROSA, T.L.M.; ARAUJO, C.P.; ALEXANDRE, R.S.; SCHMILD, E.R.; LOPES, J.C. Biometry and genetic diversity of paradise nut genotypes (Lecythidaceae). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 54, p. e00240, 2019.

SANTOS, J.O.; GOMES, R.L.F.; LOPES, A.C.A.; SILVA, S.C.C.C.; BASTOS, E.M.; COSTA, E.M.R.; SILVA, K.J.D. Genetic divergence for physical and chemical characters of seeds in lima bean (*Phaseolus lunatus* L.). **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, v. 53, p. 178-179, 2014.

SILVA, V.B.; GOMES, R.L. F.; LOPES, A.C. A.; DIAS, C.T.S.; SILVA, R.N.O. Genetic diversity and promising crosses indication in lima bean (*Phaseolus lunatus*) accessions. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 36, n. 2, p. 683-692, 2015.

SINGH, D. The relative importance of characters affecting genetic divergence. **Indian Journal of Genetic and Plant Breeding**, v. 41, p. 237-245, 1981.

SOKAL, R.R.; ROHLF, F.J. The comparison of dendrograms by objective methods. **Taxonomy**, v. 11, n. 2, p. 33-40, 1962.

TOLEDO, V.M.; BARRERA-BASSOLS, N. **A memória biocultural: a importância ecológica das sabedorias tradicionais**. 1.ed. São Paulo: Expressão Popular, 2015. 225 p.

VICENTE, M.C.; GUZMÁN, F.A.; ENGELS, J.; RAMANATHA RAO, V. Genetic Characterization and its use in decision making for the conservation of crop germplasm. In: The Role of Biotechnology, **Turin. Proceedings**, v. 7, n. 1, p. 121-128, 2005.

ARTIGO III

**Qualidade fisiológica de sementes crioulas de *Phaseolus lunatus* L.**

(A ser submetido ao periódico - Acta Scientiarum. Agronomy)

### Qualidade fisiológica de sementes crioulas de *Phaseolus lunatus* L.

**RESUMO** - O objetivo com este trabalho foi avaliar a qualidade fisiológica de sementes crioulas de *Phaseolus lunatus* L. As variedades crioulas Branca, Cancão, Cavalinha, Orelha de Vó, Eucalipto PE, Manteiguinha, Raio de Sol e Rainha, foram adquiridas de agricultores familiares e conduzidas até o Laboratório de Análise de Sementes da Universidade Federal da Paraíba para determinação da umidade, peso de mil sementes e avaliação da germinação e vigor (primeira contagem e índice de velocidade de germinação, comprimento e massa seca de plântulas, teste de tetrazólio e condutividade elétrica) e composição química. O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso com quatro repetições de cada variedade. Os dados, após constatada normalidade, foram submetidos a análise de variância com posterior agrupamento de médias. Também foram calculados parâmetros genéticos com base na análise genética de médias e variâncias e estimativa da repetibilidade. Com base nas Regras para Análise de Sementes (RAS), para o gênero de *Phaseolus*, as sementes das variedades crioulas de *P. lunatus* (Branca, Cancão, Eucalipto PE, Manteiguinha, Orelha de Vó e Rainha) são de boa qualidade fisiológica, com germinação acima de 90%. As sementes de variedades crioulas de *P. lunatus* são diferenciadas quanto a sua viabilidade através do teste de tetrazólio. A composição química das sementes crioulas de *P. lunatus*, é diferenciada, sendo aquelas da variedade Eucalipto PE com maior teor de carboidratos e da variedade Raio de sol comelevado teor de proteína. O coeficiente de correlação entre germinação, primeira contagem, índice de velocidade germinação de sementes, e também com o peso de mil sementes e comprimento de plântulas foi positiva. As estimativas dos coeficientes de repetibilidade das variáveis: umidade, germinação, primeira contagem e índice de velocidade de germinação das sementes, peso de mil sementes, comprimento e massa seca de plântulas, condutividade elétrica, sementes viáveis e inviáveis, açúcares e proteínas em variedades crioulas de *P. lunatus* demonstram alta precisão, sendo quatros repetições suficientes.

Palavras-chave: germinação, repetibilidade, tetrazólio, herdabilidade.

**ABSTRACT** - This work aims to evaluate the physiological quality of Brazilian landraces of *Phaseolus lunatus* L. seeds. The landraces Branca, Cancão, Cavalinha, Orelha de Vó, Eucalipto PE, Manteiguinha, Raio de Sol, and Rainha were acquired from family farmers and taken to the Seed Analysis Laboratory of the Federal University of Paraíba. The following characteristics were analyzed: moisture, weight of a thousand seeds, germination, vigor (first count, germination speed index, length and dry mass of seedlings, tetrazolium test, and electrical conductivity), and chemical composition. The experimental design was totally randomized, with four replicates of each. After found normality, the data were submitted to analysis of variance with the subsequent grouping of means. Genetic parameters were also calculated based on genetic analysis of means and variances and estimation of repeatability. Based on the Brazilian Seed Analysis Rules for the *Phaseolus* genus, the landraces Branca, Cancão, Eucalipto PE, Manteiguinha, Orelha de Vó, and Rainha have good physiological quality with germination above 90%. Through the tetrazolium test, landraces differed in viability. Eucalipto PE landrace's chemical composition has the highest carbohydrate content, and the Raio de Sol has a high protein content. Seed germination showed a positive correlation coefficient with the first count and the germination speed index and the weight of a thousand seeds and seedling length. Estimates of repeatability coefficients of the variables demonstrated high precision, showing that four repetitions are sufficient.

Keywords: germination, repeatability, tetrazolium, heritability.

## INTRODUÇÃO

A fava (*Phaseolus lunatus* L.) foi domesticada entre 8.000 e 10.000 anos atrás, com diversas pesquisas arqueológicas indicando que seu centro de origem é a região central da Mesoamérica, precisamente na Guatemala (Andueza-Noh et al., 2016). A espécie pertencente à família Fabaceae (Leguminosae), é cultivada em quase todas as regiões do mundo e bastante consumida na América Latina, Estados Unidos, Europa e Ásia (Moraes et al., 2017).

No Brasil, a fava possui ampla distribuição estando presente em todas as regiões (Nobre et al., 2014), no entanto devido a sua boa adaptação ao semiárido, é mais cultivada na região Nordeste, desenvolvendo-se em clima quente e úmido e solos arenosos ou de textura média com pH na faixa de 5,6 a 6,8 (Barreira Neto et al., 2015).

A produção de fava é considerada baixa, devido ao fato de ser oriunda principalmente da agricultura familiar, aliado às técnicas e equipamentos obsoletos, limitando o aumento da produtividade (Santos et al., 2002). Além disso, a ausência de genótipos selecionados para cada necessidade e região reduz a sua produção. Devido à grande variabilidade de sementes comercializadas, que diferem quanto ao seu tamanho, cor do tegumento, denominações locais e regionais, não há disponível no mercado sementes selecionadas para atender a demanda dos agricultores, predominando a utilização de sementes com origem na própria produção ou obtidas de terceiros e vizinhos (Barreira Neto et al., 2015).

O estudo da composição química é do interesse prático da tecnologia de sementes, uma vez que tanto o vigor quanto o potencial de armazenamento de sementes são influenciados pelo teor dos compostos presentes (Carvalho & Nakagawa, 2012). Em sementes de *Caesalpinia peltophoroides* Benth., lipídios, proteínas e carboidratos foram as reservas consumidas durante a germinação e crescimento inicial das plântulas, cujo consumo das reservas energéticas dos cotilédones foi fortemente correlacionado com a redução no peso de massa seca destes e, inversamente correlacionado com o aumento na produção de biomassa nas plântulas (Corte et al., 2006). Em geral, as sementes do gênero *Phaseolus* têm em sua composição diversos carboidratos (açúcares), enfatizando-os em maior quantidade: sacarose, galactose, estaquiose, rafinose, ciceritol e inositol fosfato (Pedrosa et al., 2015).

O potencial fisiológico elevado está associado a capacidade de desempenho das funções vitais caracterizadas pela longevidade, germinação e vigor (Cardoso et al.,

2012) que são fatores determinantes para o sucesso de uma produção (Gonçalves et al., 2013), sendo que essas características podem ser influenciadas pela variedade a ser cultivada (Mambrin et al., 2015).

Em uma pesquisa com sementes de nove variedades de *P. lunatus*, Nobre et al. (2012) constataram, através de testes de germinação e vigor, qualidade fisiológica inferior, no entanto as mesmas tinham qualidade física boa pelos testes de biometria e peso de mil sementes. Complementando o teste de germinação, devem ser realizados testes de vigor, ferramentas importantes para determinar a qualidade fisiológica das sementes, a exemplo dos testes de condutividade elétrica e tetrazólio (Delazeri et al., 2016).

No entanto, além dos testes mencionados acima, para realização de uma seleção mais segura, com base nos caracteres das sementes, é necessário o conhecimento da variabilidade genética da população, a qual pode ser verificada por meio da estimativa de parâmetros genéticos (Cruz, 2013). O conhecimento do coeficiente de repetibilidade das variáveis de interesse permite que a avaliação seja executada com eficiência com o menor tempo, material, mão de obra (Lopes et al., 2001).

Apesar de ser uma espécie bastante antiga, a fava é pouco estudada, principalmente no que concerne às sementes, tipos de variedades e consequentemente, o melhoramento genético é relativamente restrito. Diante do exposto, o objetivo neste trabalho foi avaliar a qualidade fisiológica de sementes crioulas de *P. lunatus*.

## MATERIAL E MÉTODOS

As sementes de oito variedades crioulas de fava (Branca, Cancão, Cavalinha, Orelha de Vó, Eucalpto PE, Manteiguinha, Raio de Sol e Rainha) foram adquiridas de agricultores familiares nos municípios de Queimadas-PB e Caruaru-PE, as quais estavam armazenadas em garrafas de polietileno tereftalato (PET) em local fechado com pouca iluminação. Em seguida, as sementes foram conduzidas até o Laboratório de Análise de Sementes do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Paraíba para determinação e realização das seguintes análises:

### Teor de água

O teor de água foi determinado pelo método da estufa a  $105 \pm 3$  °C por 24 horas, em quatro repetições com 10 g de sementes para cada variedade, sendo os resultados

expressos em porcentagem conforme as Regras para Análise de Sementes (Brasil, 2009).

### **Peso de mil sementes**

A massa de mil sementes foi determinada em oito subamostras de 100 sementes cada, pesadas em balança analítica e expressas em gramas conforme Brasil (2009).

### **Teste de germinação**

Para cada tratamento foram utilizadas 200 sementes previamente tratadas com o princípio ativo captana, na proporção de 240 g 100 kg<sup>-1</sup> de sementes, as quais foram divididas em quatro repetições de 50, distribuídas sobre duas folhas de papel toalha, cobertas com uma terceira e organizadas em forma de rolo. O papel toalha foi umedecido com água destilada na quantidade equivalente a 3,0 vezes a massa do papel não hidratado. Os rolos foram acondicionados em sacos plásticos transparentes de 0,04 mm de espessura, com a finalidade de evitar a perda de água por evaporação e colocados em germinador do tipo *Biological Oxygen Demand* (B.O.D.) regulado para o regime de temperatura constante de 25 °C com fotoperíodo de oito horas, utilizando lâmpadas fluorescentes tipo luz do dia (4 x 20 W) (Brasil, 2009).

As avaliações foram efetuadas diariamente após a instalação do teste, por um período de nove dias, quando o experimento foi encerrado, cujo critério foi a emissão de raiz primária e parte aérea (plântulas normais).

### **Primeira contagem de germinação**

Essa avaliação foi realizada juntamente com o teste de germinação, determinando-se a porcentagem de plântulas normais no quinto dia após a instalação do teste e os resultados foram expressos em porcentagem.

### **Índice de velocidade de germinação (IVG)**

Realizada conjuntamente com o teste de germinação, efetuando-se contagens diárias das plântulas normais, do quinto ao nono dia, à mesma hora e cujo índice foi calculado empregando-se a fórmula ( $IVG = \frac{G_1}{N_1} + \frac{G_2}{N_2} + \dots + \frac{G_n}{N_n}$ ) proposta por Maguire (1962), sendo IVG = índice de velocidade de germinação,  $G_1$ ,  $G_2$  e  $G_n$  = número de

sementes germinadas na primeira contagem, segunda contagem e na última contagem,  $N_1$ ,  $N_2$  e  $N_n$  = número de dias da semeadura à primeira, segunda e últimas contagens.

### **Comprimento e massa seca de plântulas**

Ao final do teste de germinação as plântulas normais foram medidas com o auxílio de uma régua graduada em centímetros, sendo os resultados expressos em cm plântula<sup>-1</sup>. Após as medições, as plântulas foram acondicionadas em sacos de papel do tipo Kraft e colocadas para secar em estufa regulada a 65 °C por 48 horas e, decorrido esse período, retiradas dos sacos e pesadas em balança analítica com precisão de 0,001g, com os resultados expressos em mg plântula<sup>-1</sup> (Nakagawa, 1999).

### **Teste de tetrazólio**

As sementes de fava foram submetidas a um pré-condicionamento, que constou na pré-embebição entre duas folhas de papel toalha umedecidas com quantidade de água equivalente a 3,0 vezes a massa seca do papel, em seguida foram colocados em germinador regulado a temperatura de 25 °C por 18 horas, contendo quatro repetições de 25 sementes cada uma. Após essa etapa foram retirados os tegumentos com bisturi, evitando-se danos aos embriões e em seguida os mesmos foram totalmente submersos na solução de 2,3,5 trifenil cloreto de tetrazólio (pH 6,5 a 7,0), na concentração de 0,25% por três horas de embebição em estufa regulada à temperatura de 40 °C no escuro (Nascimento et al., 2019). Em seguida, as sementes foram avaliadas em inviáveis e viáveis (Krzyzanowski et al., 1999).

### **Condutividade elétrica**

O teste foi conduzido em quatro subamostras de 50 sementes de cada variedade, as quais foram pesadas em balança de precisão de 0,0001 g, colocadas em copos plásticos contendo 100 mL de água deionizada e mantidas em germinador tipo *Biological Oxygen Demand* (B.O.D.), regulado a temperatura constante de 25 °C por 24 horas. Em seguida foram realizadas as leituras das soluções em condutivímetro e os resultados expressos em  $\mu\text{S cm}^{-1} \text{ g}^{-1}$  de sementes (Krzyzanowski et al., 1999).

### **Composição Química**

Para a avaliação da composição química as sementes foram encaminhadas ao Laboratório de Biologia e Tecnologia de Pós-Colheita do CCA/UFPB, em Areia - PB, para realização das seguintes determinações:

Proteína total: a determinação foi realizada pelo método de Micro Kjeldahl baseado no princípio do nitrogênio total da amostra, calculado pela fórmula  $[Proteínas\ totais\ em\ g/100g = \frac{(VA-VB) \times fa \times F \times 0,4}{P}]$  e, em seguida transformado em nitrogênio protéico (IAL, 2008), em que VA = volume de ácido clorídrico 0,1 M padronizado gasto na titulação da amostra; VB = volume de ácido clorídrico 0,1 M padronizado gasto na titulação do branco; fa = fator de correção da solução de ácido clorídrico 0,1 M; F= fator de conversão em proteínas em alimentos, considera-se que a cada 100 gramas de proteína contêm em média 16g de nitrogênio, obtendo-se desse modo o fator 6,25 e P = peso da amostra.

Carboidratos: determinados segundo o método de Lane-Eynon, de acordo com o Instituto Adolfo Lutz (2008), que se baseia na redução de volume conhecido do reagente de cobre alcalino (Fehling) a óxido cuproso, sendo o ponto final indicado pelo azul de metileno, cujos resultados foram expressos em porcentagem.

### **Delineamento e Estatística**

Para avaliação da qualidade química e fisiológica, o delineamento experimental utilizado foi inteiramente ao acaso, com quatro repetições. Os dados, após constatada normalidade, foram submetidos a análise de variância com posterior agrupamento de médias pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Os parâmetros genéticos foram estimados com base na análise genética de médias e variâncias, como coeficiente de determinação genotípica (herdabilidade), coeficiente de variação genética, correlação de Pearson e estimativa da repetibilidade também foram calculados. As análises estatísticas foram realizadas através do software Genes (Cruz, 2013).

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Pela análise de variância (Tabela 1) verificou-se efeito significativo das variedades de *P. lunatus* para a maioria das características avaliadas pelo teste F, exceto para o comprimento de plântulas. As variedades de fava têm características físicas, morfológicas e químicas que influenciam na qualidade das sementes, essas características também estão relacionadas ao ambiente em que as sementes são produzidas (Advíncula et al., 2015).

As estimativas de parâmetros genéticos e fenotípicos presentes na Tabela 1 demonstram herdabilidade de alta magnitude para todas as características, variando entre 73,81% (PR) e 99,61% (IVG). Parâmetro importante a herdabilidade indica a proporção da variabilidade fenotípica que é atribuída às causas genéticas, esse fator é importante pois permitir prever a possibilidade de ganhos com a seleção (Cruz et al., 2012). Esses valores podem variar de zero a um, sendo consideradas altas estimativas superiores a 70%, consideradas elevadas em espécies vegetais (Ramalho et al., 2012).

Tabela 1. Análise de variância para as características de umidade, germinação, primeira contagem de germinação, índice de velocidade de germinação, peso de mil sementes, comprimento e massa seca de plântulas, sementes viáveis e inviáveis, carboidratos, proteínas) em sementes e plântulas de variedades crioulas de *Phaseolus lunatus* L.

| FV               | GL | U         | G         | PCG       | IVG      | PMS     | CPL                 |
|------------------|----|-----------|-----------|-----------|----------|---------|---------------------|
| Variedades       | 7  | 1791,73** | 1409,93** | 1834,50** | 35,95**  | 51,52** | 0,002 <sup>ns</sup> |
| Resíduos         | 24 | 2,61      | 34,58     | 22,75     | 0,14     | 5,14    | 0,001               |
| Média            |    | 55,68     | 91,37     | 88,62     | 9,63     | 6,48    | 0,04                |
| CV(%)            |    | 2,90      | 6,43      | 5,38      | 3,90     | 34,99   | 70,87               |
| S <sup>2</sup> F |    | 447,93    | 352,48    | 458,62    | 8,99     | 471,73  | 0,0004              |
| S <sup>2</sup> A |    | 0,65      | 8,64      | 5,68      | 0,35     | 1,28    | 0,0002              |
| S <sup>2</sup> G |    | 447,28    | 343,83    | 452,94    | 8,95     | 11,59   | 0,0002              |
| Ø <sup>2</sup>   |    | 99,41     | 97,55     | 98,76     | 99,61    | 90,01   | 57,93               |
| CVg              |    | 37,97     | 20,29     | 24,01     | 31,05    | 38,62   | 41,59               |
| Cvg/Cve          |    | 13,08     | 3,15      | 4,46      | 7,96     | 1,5     | 0,59                |
| FV               | GL | MSPL      | CE        | TZV       | TZI      | CA      | PR                  |
| Variedades       | 7  | 3823,16** | 1,94**    | 241,67**  | 241,67** | 38,70** | 1343,30**           |
| Resíduos         | 24 | 15,83     | 0,03      | 1,61      | 1,61     | 1,91    | 3,12                |
| Média            |    | 27,18     | 2,25      | 13,28     | 11,72    | 19,35   | 24,80               |
| CV(%)            |    | 14,63     | 7,65      | 9,57      | 10,84    | 7,15    | 7,12                |
| S <sup>2</sup> F |    | 955,79    | 0,48      | 60,42     | 60,42    | 9,67    | 0,78                |
| S <sup>2</sup> A |    | 3,96      | 0,01      | 0,40      | 0,40     | 0,48    | 335,04              |
| S <sup>2</sup> G |    | 951,83    | 0,48      | 60,01     | 60,01    | 9,19    | 99,77               |
| Ø <sup>2</sup>   |    | 99,59     | 98,46     | 99,33     | 99,33    | 95,04   | 73,81               |
| CVg              |    | 113,49    | 30,66     | 58,32     | 66,11    | 15,67   | 10,36               |

\*\*significativo a 1% pelo teste F.<sup>ns</sup> não significativo; Coeficiente de variação (CV), variância fenotípica (S<sup>2</sup>F), variância ambiental (S<sup>2</sup>A), variância genotípica (S<sup>2</sup>G), herdabilidade (Ø<sup>2</sup>), coeficiente de variação genético (CVg), razão entre coeficientes de variação genético e ambiental (CVg/CVe). Umidade (U), germinação (G), primeira contagem de germinação (PCG), índice de velocidade de germinação (IVG), peso de mil sementes (PMS), comprimento (CPL) e massa seca de plântulas (MSPL), sementes viáveis (TZV) e inviáveis (TZI), carboidratos (CA), proteínas (PR).

A umidade das sementes crioulas de variedades de *P. lunatus* variou de 17 a 32%, cujas maiores porcentagens foram verificadas nas sementes das variedades Raio de Sol e Rainha (Tabela 2). Tais valores foram satisfatórios quando comparados com resultados por Advíncula et al. (2015), que variaram de 8,97 a 10,68% de umidade com

sementes de favas. A umidade das sementes é um fator importante para a realização de testes de germinação e vigor, por isso a uniformidade da mesma, em distintos lotes, é de fundamental importância para a padronização e obtenção de resultados consistentes (Krzyzanowski & Vieira, 1999).

Os menores valores de germinação e vigor, determinados pela primeira contagem e índice de velocidade de germinação (IVG) ocorreram nas sementes da variedade Cavalinha, enquanto para a primeira contagem não houve diferença significativa entre as sementes das demais variedades, e quanto ao índice de velocidade de germinação sobressaíram-se as sementes das variedades Branca, Cancão e Rainha (Tabela 3). Por ser considerado um teste simples de vigor, a primeira contagem, realizada simultaneamente com o teste de germinação é baseada na suposição que as sementes mais vigorosas germinam com uma maior rapidez (Assis et al., 2018).

Tabela 2. Umidade, germinação e vigor (primeira contagem e índice de velocidade de germinação - IVG) de sementes das variedades crioulas de *Phaseolus lunatus* L.

| Variedades   | Umidade | Germinação | Primeira contagem | IVG    |
|--------------|---------|------------|-------------------|--------|
|              | %       |            |                   |        |
| Branca       | 24 b    | 99 a       | 98 a              | 9,8 a  |
| Cancão       | 12 d    | 100 a      | 100 a             | 9,9 a  |
| Cavalinha    | 17 c    | 45 b       | 36 b              | 3,7 c  |
| Eucalipto PE | 17 cd   | 96 a       | 96 a              | 9,6 b  |
| Manteiguinha | 25 b    | 98 a       | 95 a              | 9,4 b  |
| Orelha de Vó | 24 b    | 100 a      | 100 a             | 9,9 a  |
| Raio de Sol  | 32 a    | 98 a       | 98 a              | 9,7 b  |
| Rainha       | 30 a    | 98 a       | 88 a              | 14,8 a |
| CV (%)       | 0,49    | 16,7       | 13,54             | 1,07   |

Médias seguidas da mesma letra, nas colunas, não diferem significativamente entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

A germinação das sementes das variedades Raio de Sol e Rainha foi de 98%, sendo confirmado pela alta viabilidade (Tabela 5) dessa forma afirma-se que as sementes da maioria das variedades são de elevada qualidade fisiológica, o que é importante para a obtenção de plântulas vigorosas e um estande uniforme.

Conforme legislação vigente, as sementes de fava não estão classificadas para comercialização, no entanto utiliza-se as categorias do *P. vulgaris* L., em que a germinação mínima é de 70% para as sementes básicas e 80% para as sementes certificadas e não certificadas (Brasil, 2005). A maioria das sementes de fava do

presente estudo são comercializáveis, apenas aquelas da variedade Cavalinha não atenderam ao percentual de germinação mínimo.

O maior peso de mil sementes foi obtido para as sementes da variedade Rainha, no entanto também constatou-se, para a mesma, elevados teores de condutividade elétrica, significando que as sementes tinham um menor vigor. Com relação ao comprimento de plântulas destaca-se a variedade Cavalinha porque suas plântulas se deterioraram, de forma que não foi possível proceder às medições, enquanto para a massa seca não houve diferença estatística (Tabela 3). A elevada lixiviação de solutos é uma das primeiras implicações da redução do vigor, de forma que sementes menos deterioradas liberam menos lixiviados como açúcares, aminoácidos, ácidos graxos, enzimas e íons orgânicos ( $K^+$ ,  $Ca^{3+}$ ,  $Mg^{3+}$  e  $Na^+$ ) na solução de imersão (Barbieri et al., 2012).

Tabela 3. Peso de mil sementes, comprimento e massa seca de plântulas e condutividade elétrica de sementes das variedades crioulas de *Phaseolus lunatus* L.

| Variedades   | Peso de mil sementes (g) | Comprimento de plântulas (cm) | Massa seca de plântulas (mg) | Condutividade elétrica ( $\mu S\ cm^{-1}\ g^{-1}$ ) |
|--------------|--------------------------|-------------------------------|------------------------------|-----------------------------------------------------|
| Branca       | 62,1 d                   | 8,52 ab                       | 0,04 a                       | 0,06 d                                              |
| Cancão       | 32,9 g                   | 11,67 a                       | 0,05 a                       | 56,02 b                                             |
| Cavalinha    | 38,0 f                   | 0,00 c                        | 0,00 a                       | 0,13 d                                              |
| Eucalipto PE | 43,3 e                   | 7,43 ab                       | 0,04 a                       | 62,58 ab                                            |
| Manteiguinha | 38,0 f                   | 6,00 abc                      | 0,07 a                       | 30,71 c                                             |
| Orelha de Vó | 66,6 c                   | 8,69 ab                       | 0,03 a                       | 0,06 d                                              |
| Raio de Sol  | 74,3 b                   | 6,35 abc                      | 0,02 a                       | 0,05 d                                              |
| Rainha       | 94,3 a                   | 3,17 bc                       | 0,03 a                       | 67,85 a                                             |
| CV (%)       | 4,17                     | 6,44                          | 0,76                         | 11,29                                               |

Médias seguidas da mesma letra, nas colunas, não diferem significativamente entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Esta variação pode ter ocorrido devido ao tamanho e forma das sementes, tendo consequências no peso, uma vez que os efeitos das condições ambientais podem causar variações no decorrer da fase de cultivo, da maturação até a colheita, ocasionando características diferenciadas em cultivares de fava (Nascimento et al., 2019).

A elevada porcentagem de sementes viáveis através do teste de tetrazólio foi observada nas sementes da variedade Rainha, enquanto as sementes das variedades Branca e Rainha não diferiram estatisticamente, com porcentagem boas de viabilidade (Figura 1, Tabela 4) estando de acordo com os resultados do teste de germinação. O maior teor de carboidratos foi observado nas sementes da variedade Eucalipto PE,

enquanto nas sementes da variedade Raio de Sol constatou-se o maior teor de proteína (Tabela 5). A identificação através da avaliação de lotes de sementes com alto desempenho é uma atividade importante para o êxito da produção agrícola e, conseqüentemente, as informações dos testes em laboratório devem detectar as diferenças no potencial fisiológico entre os lotes de sementes (Marcos-Filho, 2015).



Figura 1. Sementes crioulas de variedades de *Phaseolus lunatus* L., inviáveis e viáveis.

Tabela 4. Sementes viáveis e inviáveis pelo teste de tetrazólio, carboidratos e proteínas das variedades crioulas de *Phaseolus lunatus* L.

| Variedades   | Sementes viáveis | Sementes inviáveis | Carboidratos | Proteínas |
|--------------|------------------|--------------------|--------------|-----------|
|              | %                |                    |              |           |
| Branca       | 88 ab            | 12 cd              | 22,80 ab     | 23,63 c   |
| Cancão       | 60 c             | 40 b               | 21,14 abc    | 21,56 c   |
| Cavalinha    | 24 d             | 76 a               | 15,72 d      | 11,48 d   |
| Eucalipto PE | 48 c             | 52 b               | 23,79 a      | 12,64 d   |
| Manteiguinha | 24 d             | 76 a               | 18,64 cd     | 15,30 d   |
| Orelha de Vó | 80 b             | 20 c               | 15,42 d      | 38,51 b   |
| Raio de Sol  | 96 a             | 4 d                | 19,82 bc     | 64,14 a   |
| Rainha       | 88 ab            | 12 cd              | 17,47 cd     | 11,10 d   |
| CV (%)       | 3,6              | 3,6                | 3,93         | 5,01      |

Médias seguidas da mesma letra, nas colunas, não diferem significativamente entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

As sementes vigorosas ficam com uma coloração rosácea e uniforme, no entanto a ocorrência de um vermelho intenso sinaliza a deterioração das sementes, visto que tecidos assim permitem maior difusão da solução de tetrazólio através das suas membranas celulares comprometidas; quando o tecido estiver morto não ocorrerá nenhuma reação, conservando a cor natural, branca, opaca ou amarelada, também pode exibir manchas vermelhas, por conta da atividade de fungos ou bactérias (França Neto et al., 1988). Na pesquisa de Nascimento et al. (2019) o teste de tetrazólio foi eficiente em diferenciar sementes de cinco variedades crioulas de *P. lunatus* avaliando a viabilidade.

A composição química de sementes de *Phaseolus lunatus* é variável, Chel-Guerrero et al. (2002) constataram um teor de proteínas de 24,07%, Azevedo et al. (2003) verificaram que variedades com sementes de tegumento bege-claro tinham um teor de proteínas de 26,70%, enquanto Baddi & Vijayalakshmi (2015) obtiveram 62,5 g de carboidratos em 100 g de sementes, o que confirma os relato de Kathirvel & Kumudha (2011) que as sementes da referida espécie são uma boa fonte de nutrientes, como proteínas, carboidratos, fibra bruta e minerais como cálcio, fósforo, ferro.

Entre as variáveis de qualidade fisiológica e vigor das sementes, a maior estimativa de correlação ocorreu entre a germinação e a primeira contagem de germinação ( $r = 0,98$ ), seguida pelo índice de velocidade de germinação ( $r = 0,79$ ) com o peso de mil sementes ( $r = 0,75$ ) e comprimento de plântulas ( $r = 0,74$ ) evidenciando uma forte associação entre a germinação com estas variáveis, pois uma semente com condições fisiológicas ideais têm germinação rápida que pode ser influenciada pelo peso de mil sementes favorecendo o comprimento de plântulas. Estudos com sementes de dez variedades de fava, buscando verificar a correlação entre as variáveis: vigor e germinação, índice de velocidade de emergência, comprimento e espessura também demonstraram correlação positiva, havendo variação dessas correlações dentro das variedades (Nobre et al., 2012). No teste de condutividade elétrica as correlações e médias foram negativas com o processo germinativo, indicando, como esperado, uma relação inversa entre condutividade e desempenho germinativo.

A composição química (açúcares e proteínas das sementes de crioulas de *P. lunatus*), apesar de ser importante, não interferiu na germinação das sementes, evidenciando uma associação baixa entre as mesmas (Tabela 5).

Tabela 5. Matriz de correlação de Pearson entre as variáveis germinação, primeira contagem de germinação, índice de velocidade de germinação, peso de mil sementes, comprimento e massa seca de plântulas, condutividade elétrica e umidade das sementes, sementes viáveis e inviáveis, açúcares e proteínas em variedades crioulas de *Phaseolus lunatus* L.

|      | G | PCG      | IVG                  | PMS                  | CPL                  | MSPL                 | CE                    | U                     | TZV                   | TZI                   | AÇ                    | PR                    |
|------|---|----------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| G    | - | 0,9872** | 0,797*               | 0,7542*              | 0,7404*              | 0,3307 <sup>ns</sup> | 0,3023 <sup>ns</sup>  | 0,3356 <sup>ns</sup>  | 0,3857 <sup>ns</sup>  | -0,3857 <sup>ns</sup> | 0,4478 <sup>ns</sup>  | 0,3061 <sup>ns</sup>  |
| PCG  |   | -        | 0,6963 <sup>ns</sup> | 0,8259*              | 0,7397 <sup>ns</sup> | 0,2524 <sup>ns</sup> | 0,2307 <sup>ns</sup>  | 0,2348 <sup>ns</sup>  | 0,4919 <sup>ns</sup>  | -0,4919 <sup>ns</sup> | 0,4999 <sup>ns</sup>  | 0,3699 <sup>ns</sup>  |
| IVG  |   |          | -                    | 0,3203 <sup>ns</sup> | 0,4398 <sup>ns</sup> | 0,5592 <sup>ns</sup> | 0,4774 <sup>ns</sup>  | 0,6985 <sup>ns</sup>  | -0,225 <sup>ns</sup>  | 0,225 <sup>ns</sup>   | 0,1826 <sup>ns</sup>  | 0,0458 <sup>ns</sup>  |
| PMS  |   |          |                      | -                    | 0,6546 <sup>ns</sup> | 0,1427 <sup>ns</sup> | -0,2723 <sup>ns</sup> | -0,1699 <sup>ns</sup> | 0,602 <sup>ns</sup>   | -0,602 <sup>ns</sup>  | 0,5362 <sup>ns</sup>  | 0,2836 <sup>ns</sup>  |
| CPL  |   |          |                      |                      | -                    | 0,3944 <sup>ns</sup> | -0,0611 <sup>ns</sup> | -0,2261 <sup>ns</sup> | -0,0055 <sup>ns</sup> | 0,0055 <sup>ns</sup>  | 0,4107 <sup>ns</sup>  | -0,0824 <sup>ns</sup> |
| MSPL |   |          |                      |                      |                      | -                    | -0,264 <sup>ns</sup>  | 0,5500 <sup>ns</sup>  | -0,5442 <sup>ns</sup> | 0,5442 <sup>ns</sup>  | 0,3393 <sup>ns</sup>  | -0,545 <sup>ns</sup>  |
| CE   |   |          |                      |                      |                      |                      | -                     | 0,7717*               | 0,1489 <sup>ns</sup>  | -0,1489 <sup>ns</sup> | -0,2542 <sup>ns</sup> | 0,5134 <sup>ns</sup>  |
| U    |   |          |                      |                      |                      |                      |                       | -                     | 0,1045 <sup>ns</sup>  | -0,1045 <sup>ns</sup> | -0,1998 <sup>ns</sup> | 0,2329 <sup>ns</sup>  |
| TZV  |   |          |                      |                      |                      |                      |                       |                       | -                     | -0,1 <sup>ns</sup>    | 0,3363 <sup>ns</sup>  | 0,7833 <sup>ns</sup>  |
| TZI  |   |          |                      |                      |                      |                      |                       |                       |                       | -                     | -0,3363 <sup>ns</sup> | -0,7833*              |
| AÇ   |   |          |                      |                      |                      |                      |                       |                       |                       |                       | -                     | -0,466**              |
| PR   |   |          |                      |                      |                      |                      |                       |                       |                       |                       |                       | -                     |

\*\* e \* significativo a 1 e 5% de probabilidade respectivamente pelo teste t.

<sup>ns</sup>: não significativo

Correlação de Pearson (rF) entre as variáveis germinação (G), primeira contagem de germinação (PCG), índice de velocidade de germinação (IVG), peso de mil sementes (PMS), comprimento (CPL) e massa seca de plântulas (MSPL), condutividade elétrica (CE) e umidade das sementes (U), sementes viáveis (TZV) e inviáveis (TZI), açúcares (AÇ) e proteínas (PR).

Todas as variáveis neste estudo expressaram estimativa de repetibilidade variando 0,24 a 0,99 (Tabela 6) pela Anova, pelo método dos componentes principais de covariância e covariância de análise estrutural evidenciaram uma elevada regularidade na repetição com repetibilidade ( $r \geq 0,60$ ). Isso ocorre pelo fato de este considerar o comportamento cíclico das variáveis (Abeywardena, 1972). Para estas características, são necessárias, em média quatro repetições para que sejam alcançados coeficientes superiores a 90%.

Nas medidas de repetibilidade o valor máximo indica que a herdabilidade pode alcançar em sentido amplo, de modo que a diferença se deve ao fato de que a variância genotípica aplicada para estimar a repetibilidade não somente de origem genética (Xiong & Pires, 2011), confirmando que o número de repetições utilizadas no experimento foi adequado.

Tabela 6. Estimativa da repetibilidade entre variáveis germinação, primeira contagem de germinação, índice de velocidade de germinação, peso de mil sementes, comprimento de plântulas, massa seca de plântulas, condutividade elétrica, umidade das sementes, sementes viáveis, sementes inviáveis, açúcares e proteínas em variedades crioulas de *Phaseolus lunatus* L.

| Variáveis | Anova             | Componentes Principais |                   | Análise estrutural |                   |
|-----------|-------------------|------------------------|-------------------|--------------------|-------------------|
|           |                   | Covariância            | Correlação        | Covariância        | Correlação        |
| G         | 0,9916<br>(99,78) | 0,9916<br>(99,73)      | 0,9893<br>(99,73) | 0,9141<br>(97,41)  | 0,9893<br>(99,73) |
| PCG       | 0,9523<br>(98,76) | 0,9877<br>(99,68)      | 0,9864<br>(99,65) | 0,9563<br>(98,76)  | 0,9864<br>(99,65) |
| IVG       | 0,9845<br>(99,65) | 0,9871<br>(99,67)      | 0,9871<br>(99,67) | 0,9862<br>(99,65)  | 0,9871<br>(99,67) |
| PMS       | 0,9954<br>(99,88) | 0,9967<br>(99,91)      | 0,9967<br>(99,91) | 0,9862<br>(99,90)  | 0,9967<br>(99,91) |
| CPL       | 0,6927<br>(90,01) | 0,6976<br>(90,22)      | 0,7328<br>(91,74) | 0,6949<br>(90,10)  | 0,7158<br>(90,96) |
| MSPL      | 0,2474<br>(56,79) | 0,7398<br>(91,91)      | 0,6374<br>(87,55) | 0,2156<br>(52,36)  | 0,5599<br>(83,57) |
| CE        | 0,9836<br>(99,58) | 0,9846<br>(99,60)      | 0,984<br>(99,59)  | 0,983<br>(99,57)   | 0,9839<br>(99,59) |
| U         | 0,9413<br>(98,96) | 0,9563<br>(98,86)      | 0,9544<br>(98,81) | 0,95<br>(98,70)    | 0,9542<br>(98,81) |
| TZV       | 0,9738<br>(99,33) | 0,9773<br>(99,42)      | 0,9782<br>(99,44) | 0,9742<br>(99,34)  | 0,9782<br>(99,44) |
| TZI       | 0,9738<br>(99,33) | 0,9773<br>(99,42)      | 0,9782<br>(99,44) | 0,9742<br>(99,34)  | 0,9782<br>(99,44) |
| AÇ        | 0,8274<br>(95,04) | 0,8349<br>(95,28)      | 0,8576<br>(96,01) | 0,8246<br>(94,95)  | 0,8543<br>(95,90) |
| PR        | 0,9908<br>(99,76) | 0,9906<br>(99,76)      | 0,9906<br>(99,76) | 0,99<br>(99,74)    | 0,9906<br>(99,76) |

<sup>1</sup>Valores entre parêntesis referem-se ao coeficiente de determinação associado ao coeficiente de repetibilidade. Germinação (G), primeira contagem de germinação (PCG), índice de velocidade de germinação (IVG), peso de mil sementes (PMS), comprimento de plântulas (CPL), massa seca de plântulas (MSPL), condutividade elétrica (CE), umidade das sementes (U), sementes viáveis (TZV), sementes inviáveis (TZI), açúcares (AÇ) e proteínas (PR).

## CONCLUSÕES

Com base nas Regras para Análise de Sementes (RAS) para o gênero *Phaseolus*, observou-se uma boa qualidade fisiológica das sementes das variedades crioulas de *Phaseolus lunatus* Branca, Cancão, Eucalipto PE, Manteiguinha, Orelha de Vó e Rainha, com germinação acima de 90%;

As sementes de variedade crioulas de *P. lunatus* são diferenciadas quanto a sua viabilidade através do teste de tetrazólio;

A composição química das sementes das variedades crioulas de *P. lunatus* é diferenciada, sendo aquelas da Eucalipto PE com maior teor de carboidratos e da variedade Raio de sol com elevado teor de proteína;

A repetibilidade das variáveis avaliadas é alta e a avaliação com 4 repetições nos testes de germinação e vigor permitem boa representatividade da variabilidade entre as variedades crioulas de *P. lunatus*;

A correlação positiva entre os testes de germinação e o vigor das sementes crioulas de *P. lunatus* é importante, pois com isso pode identificar a existência de interrelação entre estes testes.

## REFERÊNCIAS

- Abeywardena, V. (1972). An application of principal component analysis in genetics. *Journal of genetics*, 61(1), 27-51. DOI:10.1007/BF02984099.
- Advíncula, T. L., Nadai, F. B., Nobre, D. A. C., Ferreira, É. N. M., Brandão Júnior, D. S., & Costa, C. A. (2015). Qualidade física e fisiológica de sementes de *Phaseolus lunatus* L. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias*, 10(3), 341-346. DOI:10.5039/agraria.v10i3a2548.
- Andueza-Noh, R. H., Camacho-Pérez, L., Martínez-Castillo, J., & May-Pat, F. (2016). Distribución geográfica de los parientes silvestres del acervo genético mesoamericano del frijol lima (*Phaseolus lunatus* L.) en México. *Polibotánica*, 41(1), 101-113. DOI:10.18387/polibotanica. 41.7.
- Assis, M. O., David, A. M. S. S., Amaro, H. R., Vieira, N. M. B., Carvalho, A. J., Silva, M. B. O., & Figueiredo, J. C. (2018). Sowing time and physiological potential of bean seeds of different growth types. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias*, 13(2), 1-7. DOI:10.5039/agraria.v13i2a5537.

- Azevedo, J. N., Franco, L. J. D., & Araújo, R. O. C. (2003). *Composição química de sete variedades de feijão-fava*. Teresina: Embrapa Meio Norte. 4p. (Comunicado Técnico 152).
- Baddi, J., & Vijayalakshmi, D. (2015). Nutrient composition and glycemic index of lima bean seeds (*Phaseolus lunatus*). *Mysore Journal Agricultural Sciences*, 49(2), 431-434.
- Barbieri, A. P. P., Menezes, N. L., Conceição, G. M., & Tunes, L. M. (2012). Teste de lixiviação de potássio para a avaliação do vigor de sementes de arroz. *Revista Brasileira de Sementes*, 34(1), 117-124.
- Barreira Neto, M., Fagundes, R. A. A., Barbosa, M. M., Arriel, N. H. C., Franco, C. F. O., & Santos, J. F. (2015). Características morfológicas e produtivas em acessos de feijão-fava consorciados. *Tecnologia & Ciência Agropecuária*, 9(3), 23-27. ISSN 1982-2871.
- Brasil. (2009). Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regras para análise de sementes. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília, DF: MAPA/ACS, 395p.
- Brasil. (2005). Padrões para produção e comercialização de sementes de feijão. Anexo IV da IN n.25, Brasília: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento /ACS.
- Cardoso, R. B., Binotti, F. F. S., & Cardoso, E. D. (2012). Potencial fisiológico de sementes de crame em função de embalagens e armazenamento. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, 42(3), 272-278. DOI:10.1590/S1983-40632012000300006.
- Carvalho, N. M., & Nakagawa, J. Sementes: ciência, tecnologia e produção. (2012). Jaboticabal: FUNEP, 5.ed, 590.
- Chel-Guerrero, L., Perez-Flores, V., Betancur-Ancona, D., & Dávila-Ortiz, G. (2002). Functional properties of flours and protein isolates from *Phaseolus lunatus* and *Canavalia ensiformis* seeds. *Journal Agricultural and Food Chemistry*, 50(3), 584-591. DOI:10.1021/jf010778j.
- Corte, V. B., Borges, E. E. L., Pontes, C. A., Leite, I. T. A., Ventrella, M. C., & Mathias, A. A. (2006). Mobilização de reservas durante a germinação das sementes e crescimento das plântulas de *Caesalpinia peltophoroides* Benth. (Leguminosae-Caesalpinoideae). *Revista Árvore*, 30(6), 941-949.
- Cruz, C. D., Regazzi, A. J., & Carneiro, P. C. S. (2012). *Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético*. 4.ed. Viçosa: UFV. 514p.

- Cruz, D. C. (2013). GENES - a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. *Acta Scientiarum. Agronomy*, 35(3), 271-276. DOI:10.4025/actasciagron.v35i3.21251.
- Delazeri, P., Garlet, J., & Souza, G. F. (2016). Teste de condutividade elétrica em lotes de sementes de *Schinus molle* L. *Floresta e Ambiente*, 23(3), 413-417. DOI:10.1590/2179-8087.142615.
- França Neto, J. B., Pereira, L. A. G., Costa, N. P., Krzyzanowski, F. C., & Henning, A. A. *Metodologia do teste de tetrazólio em sementes de soja*. Londrina: EMBRAPA SOJA, 1988. 60p.
- Gonçalves, L. G. V., Andrade, F. R., Marimon Junior, B. H., Schossler, T. R., & Lenza, E. (2013). Biometria de frutos e sementes de mangaba (*Hancornia speciosa* Gomes) em vegetação natural na região leste de Mato Grosso, Brasil. *Revista de Ciências Agrárias*, 36(1), 31-40.
- Instituto Adolfo Lutz - IAL. (2008). *Métodos físico-químicos para análise de alimentos*. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz. 1020p.
- Kathirvel, P., & Kumudha, P. (2011). A comparative study on the chemical composition of wild and cultivated germplasm of *Phaseolus lunatus* L. *International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology*, 2(4), 296-305.
- Krzyzanowski, F. C., & Vieira, R. D. (1999). Deterioração controlada. In: Krzyzanowski, F. C., Vieira, R. D., & França Neto, J. B. *Vigor de sementes: conceitos e testes*. Londrina: ABRATES. Cap.3. p.1-10.
- Lopes, R., Bruckner, C. H., Cruz, C. D., Lopes, M. T. G., & Freitas, G. B. (2001). Repetibilidade de características do fruto de aceroleira. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 36(3), 507-513.
- Maguire, J. D. (1962). Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedlings emergence and vigor. *Crop Science*, 2(2), 176-177.
- Mambrin, R. B., Ribeiro, N. D., Henning, L. M. M., Henning, F. A., & Barkert, K. A. (2015). Seleção de linhagens de feijão com base no padrão e na qualidade de sementes. *Revista Caatinga*, 28(3), 147-156.
- Marcos-Filho, J. (2015). Seed vigor testing: an overview of the past, present and future perspective. *Scientia Agricola*, 72(4), 363-374.
- Moraes, C. S., Dias, T. A. B., Costa, S. P. P., Vieira, R. C., Noronha, S. E., & Burle, M. L. (2017). *Catálogo de fava (Phaseolus lunatus L.) conservada na Embrapa*. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 46p.

- Nakagawa, J. (1999). Testes de vigor baseados no desempenho das plântulas. In: Krzyzanoski, F.C., Vieira, R.D., França Neto, J.B. (Ed.). *Vigor de sementes: conceitos e testes*. Londrina: ABRATES, p. 2.1-2.24.
- Nascimento, M. G. R., Silva, M. L. M., Alves, E. U., Rodrigues, C. M., & Silva, M. J. (2019). Vigor tests in seeds landrace of *Phaseolus lunatus* L. *Bioscience Journal*, 35(5), 1463-1469. DOI:10.14393/BJ-v35n5a2019-42309.
- Nobre, D. A. C., Brandão Junior, D. S., Nobre, E. C., Santos, J. M. C., Miranda, G. S. D., & Alves, L. P. (2012). Qualidade física, fisiológica e morfologia externa de sementes de dez variedades de feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.). *Brazilian Journal of Biosciences*, 10(4), 425-429.
- Nobre, D. A. C., Mendes, R. B., Porto, B. B. A., Azevedo, D. M. Q. & Brandão Junior, D. S. (2014). Bioatividade de extratos aquosos de plantas medicinais em sementes de feijão-fava. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, 16(2), 467-472.
- Pedrosa, M. M., Cuadrado, C., Burbano, C., Muzquiz, M., Cabellos, B., Olmedilla-Alonso, B., & Asensio-Vegas, C. (2015). Effects of industrial canning on the proximate composition, bioactive compounds contents and nutritional profile of two Spanish common dry beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Food Chemistry*, 166(1), 68-75. DOI:10.1016/j.foodchem.2014.05.158.
- REML/BLUP. *Revista Caatinga*, 28(2), 57-63.
- Ramalho, M. A. P., Abreu, A. F. B., Santos, J. B., & Nunes, J. A. R. 2012. Aplicações da genética quantitativa no melhoramento de plantas autógamas. Lavras, UFLA, 522p.
- Santos, D., Corlett, F. M. F., Mendes, J. E. M. F., & Wanderley Junior, J. S. A. (2002). Produtividade e morfologia de vagens e sementes de variedades de fava no Estado da Paraíba. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 37(10), 1407-1412. DOI: 10.1590/S0100-204X2002001000008.
- Xiong, Z., & Pires, J. C. (2011). Karyotype and identification of all homoeologous chromosomes of allopolyploid *Brassica napus* and its diploid progenitors. *Genetics*, 187(1), 37-49. DOI:10.1534/genetics.110.122473.

**Germination and vigor of seeds of landraces varieties of  
*Phaseolus lunatus* L. submitted to salinity conditions**

(A ser submetido ao periódico - Ciência Agronômica)

**Germination and vigor of seeds of landraces varieties of *Phaseolus lunatus* L.  
submitted to salinity conditions**

**Germinação e vigor de sementes de variedades crioulas de *Phaseolus lunatus*  
L. submetidas a condições de salinidade**

**ABSTRACT** - Water salinity problems have gradually increased in arid and semi-arid regions, requiring knowledge about cultures' tolerance to salts. This study evaluates the response of *Phaseolus lunatus* L. seed landraces to increasing saline concentrations. The seeds were obtained from family farmers in the States of Paraíba and Pernambuco and taken to the Seed Analysis Laboratory of the Federal University of Paraíba, Areia, Paraíba. Seeds were subjected to conditions of salt stress with sodium chloride solutions (NaCl) in concentrations of 0.0 (control), 2.0, 4.0, 6.0, 8.0, and 10.0 dS m<sup>-1</sup>. We evaluated germination percentage, first count of germination, germination speed index, length and dry mass of roots and shoots of seedlings. A completely randomized experimental design was used, with treatments distributed in a 7 x 6 factorial scheme (7 landraces and 6 salt concentrations). High concentrations of NaCl did not affect germinative percentage. Most landraces had high germination in the first count, above 80%. The length of the aerial part of the seedlings from seeds of all varieties reduced with increasing salinity, varying from 0.0042 to 3.97 cm. However, seeds of all landraces germinated at 98%, even in saline concentrations of up to 10 dS m<sup>-1</sup>. Landraces Branca, Cancão, and Orelha de Vó are the most tolerant of water salinities up to 10 dS m<sup>-1</sup>.

**Keywords:** Salt concentrations. Seedling growth. Toxicity.

**RESUMO** - Em regiões áridas e semiáridas o problema com a salinidade vem aumentando gradativamente, com isso faz-se necessário conhecer o quanto as culturas são tolerantes aos sais. Dessa forma, objetivou-se avaliar o comportamento de sementes de variedades crioulas de *Phaseolus lunatus* L., submetidas a concentrações de salinas de NaCl. As sementes de *P. lunatus* foram obtidas de produtores familiares dos Estados da Paraíba e Pernambuco, e levadas para o Laboratório de Análise de Sementes pertencente a Universidade Federal da Paraíba, em Areia, PB, para serem submetidas a condições de estresse salino simulado com soluções de cloreto de sódio (NaCl). Utilizou-se como soluto o cloreto de sódio (NaCl), nas concentrações de 0,0 (testemunha); 2,0; 4,0; 6,0; 8,0 e 10,0 dS m<sup>-1</sup>. Foram realizadas avaliações de germinação, primeira contagem e o índice de velocidade de germinação, comprimento e massa seca de raízes e parte aérea de plântulas. Foi utilizado o delineamento inteiramente ao acaso, com os tratamentos distribuídos em esquema fatorial 7 x 6 (variedades e concentrações salinas). O percentual germinativo não foi afetado por altas concentrações de NaCl. A germinação na primeira contagem foi alta, acima de 80%, entre as sementes da maioria das variedades. O comprimento de parte aérea das plântulas oriundas de sementes de todas as variedades reduziu com o aumento da salinidade, variando 0,0042 a 3,97 cm. As sementes de variedades crioulas de *P. lunatus* germinam 98% em concentrações salinas de até 10 dS m<sup>-1</sup>; as variedades crioulas Branca, Cancão, Orelha de Vó são as mais tolerantes a salinidade de até 10 dS m<sup>-1</sup>.

**Palavras-chave:** Concentrações salinas. Crescimento de plântulas. Toxicidade.

## INTRODUÇÃO

A alta taxa de evaporação e à baixa precipitação em regiões áridas e semiáridas, promovem a ocorrência de solos salinos e salino-sódicos, assim como o manejo incorreto, a utilização de técnicas agrícolas de forma inadequada e a falta de água limitam a produção em áreas consideradas produtivas (RUIZ *et al.*, 2006; HOLANDA *et al.*, 2010; PESSOA *et al.*, 2010). No decorrer do ciclo de vida de uma planta, estresses abióticos podem acontecer com frequência, sendo a seca uma fonte potencial primária de estresse que suprime o crescimento de culturas, responsável pela redução considerável na produção (MUNNE-BOSCH; ALEGRE, 2013).

Para a sobrevivência e desenvolvimento em condições salinas, as plantas diferenciam-se nas estratégias e no grau de tolerância, sobretudo em processos iniciais de desenvolvimento, como a germinação e emergência. A tolerância pode agrupar as plantas em duas categorias: halófitas, plantas que são nativas de solos salinos e completam seus ciclos de vida nesses ambientes, ou glicófitas, plantas incapazes de resistir aos sais no mesmo teor que as halófitas (TAIZ *et al.*, 2017).

Inicialmente, observa-se a diminuição na absorção de água que modifica o processo de embebição (FERREIRA; REBOUÇAS, 1992). Nesse sentido, o percentual germinativo em meio salino tem sido um dos métodos difundidos para obtenção da tolerância das plantas ao excesso de sais (LIMA *et al.*, 2015) porque a utilização destes podem ocasionar a inibição do desenvolvimento metabólico (crescimento do eixo embrionário, se aceleram à medida que a semente absorve água presente no ambiente da germinação) das sementes, pela redução do potencial osmótico, resultado que ocorre através da concentração e ação de íons sobre o protoplasma (CARVALHO; NAKAGAWA, 2012; HARTER *et al.*, 2014).

Em diversas culturas vegetais a produtividade diminui com a salinidade do solo, o feijoeiro é uma das culturas mais sensíveis a salinidade (BEN-GAL *et al.*, 2009). *Phaseolus lunatus* L. é uma espécie adaptada às condições edafoclimáticas do Nordeste brasileiro, devido requerer uma baixa umidade quando comparada a outras espécies do mesmo gênero (CAVALCANTE *et al.*, 2012). Essa espécie é comercialmente explorada, atingindo uma relativa importância econômica em alguns estados brasileiros (SANTOS *et al.*, 2002).

Ao avaliar a cultura do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) foi verificado um decréscimo na germinação de suas sementes a partir do potencial hídrico de -0,6 MPa, no entanto, os cultivares BRS Esplendor e BRS Agreste se destacaram como tolerantes ao déficit hídrico e as cultivares BRS Estilo, BRS Pérola, BRS Pontal e BRS Cometa demonstraram sensibilidade à restrição hídrica (DUARTE *et al.*, 2013). Sementes de variedades de *P. lunatus* quando submetidas a diferentes concentrações salinas de NaCl conseguem germinar, no entanto, há o comprometimento do vigor expresso pelo desenvolvimento das plântulas (NASCIMENTO *et al.*, 2017).

Diante dessas considerações objetivou-se avaliar o comportamento de sementes de variedades crioulas de *P. lunatus*, submetidas concentrações salinas de NaCl.

## MATERIAL E MÉTODOS

As sementes de *P. lunatus* foram obtidas de produtores familiares dos estados da Paraíba e Pernambuco, em seguida levadas para o Laboratório de Análise de Sementes pertencente a Universidade Federal da Paraíba, Areia-PB para serem submetidas a condições de estresse salino simulado com soluções de cloreto de sódio (NaCl).

Tabela 1. Procedência e cor padrão das sementes de variedades crioulas *Phaseolus lunatus* L.

| Variedades   | Procedência   | Cor padrão do tegumento |
|--------------|---------------|-------------------------|
| Branca       | Queimadas, PB | Ausente                 |
| Cavalinha    | Queimadas, PB | Ausente                 |
| Cancão       | Queimadas, PB | Vermelho - púrpura      |
| Eucalipto PE | Caruaru, PE   | Vermelho - púrpura      |
| Manteiguinha | Queimadas, PB | Laranja                 |
| Orelha de Vó | Queimadas, PB | Preto                   |
| Rainha       | Queimadas, PB | Branco                  |

\*cor padrão das sementes de acordo com o descritor IPGRI.

**Estresse salino** - na simulação do estresse salino utilizou-se como soluto o cloreto de sódio (NaCl) nas concentrações de 0,0 (testemunha); 2,0; 4,0; 6,0; 8,0 e 10,0 dS m<sup>-1</sup>. A diluição foi em água destilada e deionizada, sendo o valor da condutividade elétrica das soluções verificado com o auxílio de um condutivímetro. No nível zero foi utilizada apenas água destilada e deionizada para umedecer o substrato. Os valores de condutividade elétrica das soluções de cloreto de sódio foram obtidos pela expressão de Richards (1954), sendo,

$$CS = \frac{0,001(CEs - CEan)P_{eq}}{0,097}, \text{ em que } CS = \text{concentração (g L}^{-1}\text{); } CEs =$$

condutividade elétrica a 25 °C da água da mistura (dS m<sup>-1</sup>); CEan = condutividade elétrica da água utilizada (dS m<sup>-1</sup>); Peq = peso equivalente do sal utilizado e 0,097 = porcentagem de pureza estimada do NaCl.

**Teste de germinação** - para cada tratamento foram utilizadas 200 sementes divididas em quatro repetições de 50, as quais foram distribuídas sobre duas folhas de papel toalha (germitest), cobertas com uma terceira e organizadas em forma de rolo, sendo o papel umedecido com as soluções e com água destilada e deionizada na quantidade equivalente a 3,0 vezes a sua massa seca. Os rolos foram acondicionados em sacos plásticos transparentes e em seguida colocados em germinadores tipo *Biological Oxygen Demand* (B.O.D.) regulado a temperaturas de

25 °C, com fotoperíodo de 8/16 horas de luz e escuro, respectivamente, utilizando-se lâmpadas fluorescentes tipo luz do dia (4 x 20 W). As avaliações foram efetuadas diariamente, dos cinco aos dez dias após a instalação do teste, considerando-se como sementes germinadas aquelas que haviam emitido a raiz primária e parte aérea (plântulas normais) (BRASIL, 2009).

**Primeira contagem de germinação** - a sua condução foi realizada juntamente com o teste de germinação, determinando-se a porcentagem de plântulas normais no quinto dia após a instalação do teste, com os resultados expressos em porcentagem.

**Índice de velocidade de germinação** - conduzido conjuntamente com o teste de germinação, mediante contagens diárias do número de sementes germinadas, no mesmo horário, dos cinco aos dez dias após a semeadura, cujo índice foi calculado empregando-se a fórmula proposta por Maguire (1962).

**Comprimento e massa seca de raízes e parte aérea de plântulas** - no final do teste de germinação, as plântulas consideradas normais (raiz primária e parte aérea) de cada tratamento e repetição foram divididas em raízes e parte aérea e medidas com auxílio de uma régua graduada em centímetros, sendo os resultados expressos em cm plântula<sup>-1</sup>. Após as medições as partes foram separadas e acondicionadas em sacos de papel do tipo Kraft, postos na estufa de circulação e renovação de ar regulada a 65°C por 48 horas, e para obtenção da massa seca esse material foi pesado em balança de precisão de 0,001g e os resultados expressos em miligrama plântula<sup>-1</sup> (BRASIL, 2009).

**Delineamento experimental e análise estatística** - para avaliação do efeito da salinidade foi utilizado o delineamento inteiramente ao acaso, com os

tratamentos distribuídos em esquema fatorial 7 x 6 (variedades e concentrações salinas), utilizando o R versão 3.0.3 (R Core Team, 2014).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir da análise de variância, com exceção da variável germinação, verificou-se efeito significativo para interação entre variedades e salinidade para primeira contagem, índice de velocidade de germinação de sementes, comprimento de raiz, comprimento de parte aérea, massa seca de raízes e parte aérea de plântulas (Tabela 2), indicando que o percentual germinativo não foi afetado por altas concentrações de NaCl. Resultado interessante, uma vez que o percentual de germinação das sementes da maioria das plantas glicófitas demonstram não ser afetado pela salinidade, provavelmente porque as sementes de plantas cultivadas germinam em poucos dias, como é o caso das sementes de fava, passando pouco tempo nas concentrações salinas em que estão sendo submetidas. Corroborando com Marques *et al.* (2011), quando relataram que a germinação das sementes da maioria das glicófitas cultivadas é menos afetada pela salinidade do que a etapa de estabelecimento de plântulas, sendo o tamanho das sementes outra característica que influencia a captação da água (LOPES *et al.*, 2018).

A exigência para que se inicie o crescimento do embrião é de que a semente alcance um teor de água entre 35 a 40% (CARVALHO; NAKAGAWA, 2012), desta forma pode-se indicar que mesmo com a alteração do potencial osmótico através da adição de soluções salinas no substrato, as sementes conseguem absorver água satisfatoriamente, de forma a ativar o metabolismo, favorecendo o crescimento do embrião e viabilizando a exteriorização das estruturas que preservam uma plântula normal (SILVA *et al.*, 2016).

Tabela 2. Resumo da análise de variância para percentual de germinação, primeira contagem e índice de velocidade de germinação de sementes, comprimento de raízes e parte aérea de plântulas, massa seca de raízes e parte aérea de plântulas oriundas de sementes de variedades crioulas de *Phaseolus lunatus* L. submetidas a diferentes concentrações salinas com NaCl.

| FV      | GL  | G                  | PCG       | IVG     | CR      | CPA    | MSR       | MSPA                 |
|---------|-----|--------------------|-----------|---------|---------|--------|-----------|----------------------|
| V       | 6   | 12466,2*           | 14303,4** | 133,3** | 176,8** | 18,0** | 0,001**   | 0,001*               |
| C       | 5   | 92,1 <sup>ns</sup> | 112,0**   | 11,85** | 4,5*    | 0,72** | 0,00002** | 0,0001 <sup>ns</sup> |
| V* C    | 30  | 1517 <sup>ns</sup> | 75,5**    | 75,7**  | 62,9**  | 16,6** | 0,00002** | 0,003**              |
| Resíduo | 126 |                    |           |         |         |        |           |                      |
| CV(%)   |     | 7,12               | 6         | 5,95    | 27,6    | 26,6   | 23,1      | 87,7                 |

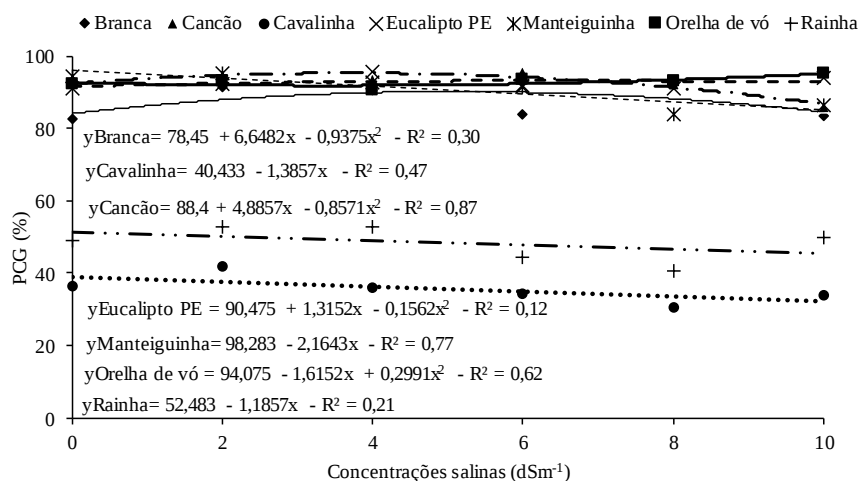
FV: Fonte de variação, V: variedades, C: concentrações, GL: Grau de liberdade, CV (%): Coeficiente de variação. Significativo ao nível de 1(\*\*) e 5 (\*) % de probabilidade, <sup>ns</sup> Não significativo pelo teste F. Análise de variância (ANOVA) para percentual de germinação (G), primeira contagem (PCG) e índice de velocidade de germinação (IVG) de sementes, comprimento de raízes (CR) e parte aérea de plântulas (CPA), massa seca de raízes (MSR) e parte aérea (MSPA).

A germinação na primeira contagem foi alta, acima de 80%, entre as sementes da maioria das variedades, com exceção daquelas das variedades Cavalinha e Rainha, cuja germinação na primeira contagem foi de 40 e 50%, respectivamente. As sementes com os maiores percentuais de germinação na primeira contagem foram, das variedades Branca (78%), Cancão (88%), Eucalipto PE (91%) e Orelha de Vó (94%), nas seguintes concentrações salinas 3,55; 2,85; 4,22 e 2,7 dS m<sup>-1</sup>, consecutivamente, enquanto nas sementes da variedade Manteiguinha houve uma germinação inicial de 98%, na primeira contagem, no entanto com o aumento da salinidade houve uma redução linear (Figura 1).

Na primeira contagem de germinação de sementes de fava das variedades Branca, Orelha de Vó, Rosinha e Roxinha, Nascimento *et al.* (2017) verificaram um decréscimo no percentual a partir da concentração de 1,5 dS m<sup>-1</sup>. Em sementes de feijão carioca (*Phaseolus vulgaris* L.), a germinação das sementes de foi nula em potencias de -0,48 MPa quando submetida ao estresse salino (DANTAS *et al.*, 2007), demonstrando maior sensibilidade da cultura a salinidade, com redução da germinação, comprimento de hipocótilo e radícula no potencial de -0,6 MPA (VIÇOSI *et al.*, 2017). A porcentagem de germinação das sementes de feijão caupi

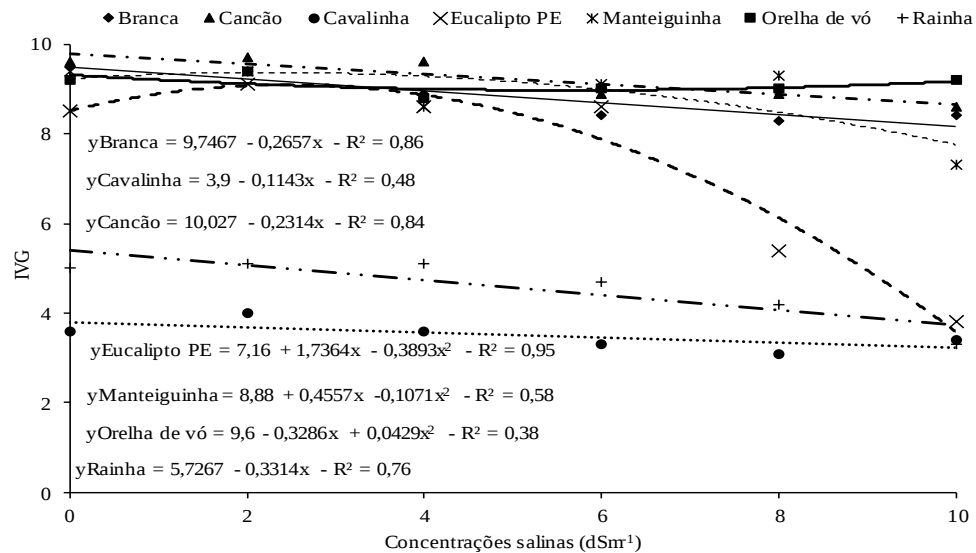
(*Vigna unguiculata*) cv. BRS Pajeú quando submetidas a solução de NaCl com potenciais abaixo de -0,35 MPa foi inferior a 80% (GOMES FILHO *et al.*, 2019).

**Figura 1.** Primeira contagem de germinação de sementes crioulas de *Phaseolus lunatus* L., submetidas às concentrações salinas.



Os dados do índice de velocidade de germinação (IVG) foram significativos para as concentrações salinas, em todas as variedades (Figura 2). As sementes das variedades Eucalipto PE e Manteiguinha alcançaram o IVG máximo (7,0 e 8,8) nas concentrações 2,23 e 2,13 dS m<sup>-1</sup>, consecutivamente, enquanto naquelas de Orelha de Vó obteve-se o mínimo de 9,6 na salinidade de 3,82 dS m<sup>-1</sup>. A variação no IVG entre as sementes das variedades, a exemplo da Orelha de Vó por ser conta do seu tamanho ser superior as variedades Eucalipto PE e Manteiguinha, conseguiu germinar mais rápido, confirmando que variedades com sementes maiores em condições salinas se sobressaem quando comparadas com variedades de sementes pequenas.

**Figura 2.** Índice de velocidade de germinação de sementes crioulas de *Phaseolus lunatus* L., submetidas às concentrações salinas.

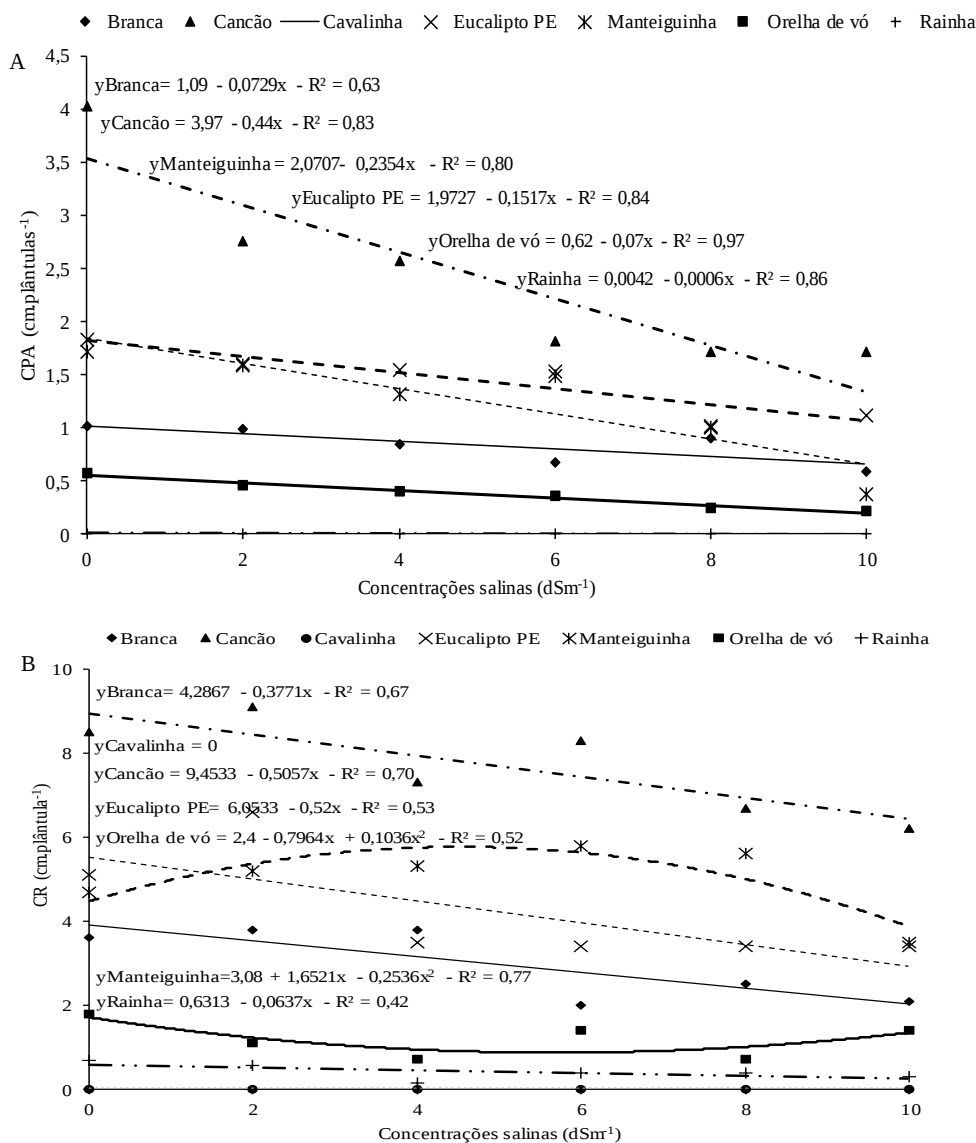


A diminuição do potencial hídrico reduz a velocidade de absorção de água pelas sementes, necessitando de um período maior para alcançar o teor mínimo de água exigido para o início da germinação (CARVALHO; NAKAGAWA, 2012). As sementes de variedades de feijão deste trabalho toleram nível salino de até  $9,0 \text{ dS m}^{-1}$ . De acordo com Nunes *et al.* (2019) as sementes de feijão caupi toleraram um nível salino de  $3,0 \text{ dS m}^{-1}$  sem afetar a germinação e o vigor.

Pela análise de regressão polinomial, relacionando-as diferentes concentrações salinas, verificou-se que ocorreu ajustes a funções lineares decrescentes para o comprimento de raiz e parte aérea de plântulas em função das diferentes concentrações salinas (Figuras 3A e B), ou seja, à medida que o estresse salino aumentou, caracterizou-se o efeito dos sais em retardar os valores das referidas características para as variedades Branca, Cancão, Eucalipto PE, Cavalinha, Orelha de Vó e Manteiguinha. Os menores comprimentos de raiz ( $2,4 \text{ cm plântula}^{-1}$ ) foram verificados nas plântulas oriundas de sementes da variedade Orelha de Vó na concentração de  $3,84 \text{ dS m}^{-1}$  e atingiu o maior comprimento ( $3,08$

cm plântula<sup>-1</sup>) nas plântulas originadas de sementes da variedade Manteiguinha na concentração salina de 3,25 dS m<sup>-1</sup> (Figura 3A).

**Figura 3.** Comprimento de raízes e parte aérea de plântulas de *Phaseolus lunatus* L., oriundas de sementes crioulas submetidas às concentrações salinas.



O comprimento de parte aérea das plântulas oriundas de sementes de todas as variedades analisadas reduziu com o aumento da salinidade, variando de 0,0042 a 3,97 cm (Figura 3B), concordando com Rosales *et al.* (2012), ao relatarem que o crescimento da raiz e parte aérea são afetados negativamente na presença de salinidade e, também corroborando com Aydin *et al.* (2012) ao enfatizar que este

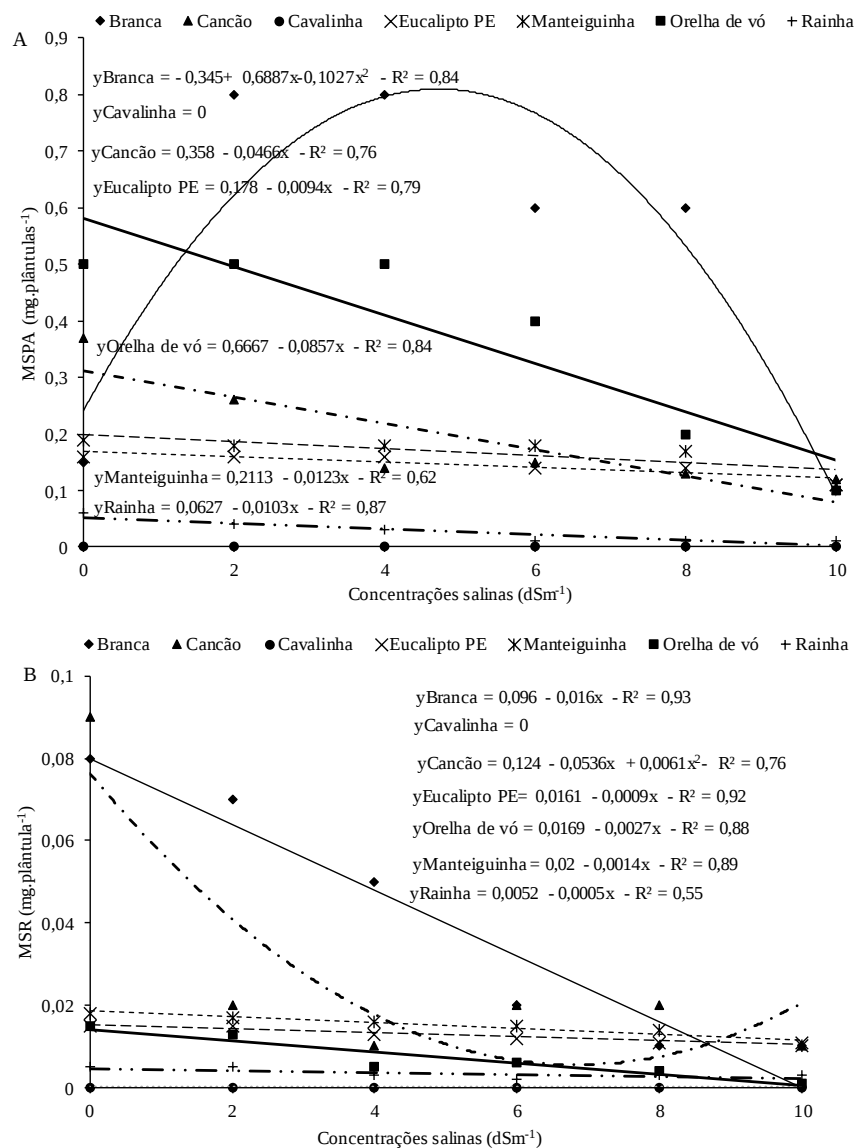
fato ocorre particularmente devido ao acúmulo dos íons que reduzem a produção de biomassa de raízes e parte aérea.

A presença de NaCl compromete a parte aérea devido ao fato de as raízes também serem comprometidas, por conta dos sais reterem a água ficando indisponível ou restrita para as raízes absorverem (CALVO-POLANCO *et al.*, 2014), causando uma maior restrição da entrada de água na planta e, consequentemente, um desequilíbrio inadequado para o desenvolvimento.

As plantas quando estão expostas às condições salinas podem ter alterações morfológicas anatômicas, tendo em vista a redução da perda de água pela transpiração evidenciando que o gênero *Phaseolus* é sensível a salinidade (DALCHIAVON *et al.*, 2016). Uma vez que a diluição dos sais prejudica à absorção de água devido ao seu excesso, causando problemas de salinidade e toxicidade, resultando em danos celulares e moleculares na maioria das glicófitas (TAIZ; ZEIGER, 2013).

Quanto à massa seca de raízes e parte aérea de plântulas (Figura 4A e B), verificou-se redução linear para as plântulas oriundas de sementes da maioria das variedades quando submetidas às concentrações salinas de NaCl com peso de < 0,01mg. As plântulas oriundas de sementes da variedade Cancão obtiveram o valor mínimo de 0,124 mg plântulas<sup>-1</sup> na concentração 4,39 dS m<sup>-1</sup>, demonstrando que elevadas concentrações de sais afetam o desenvolvimento de plântulas normais de *P. lunatus*.

**Figura 4.** Massas seca das raízes e parte aérea de plântulas de *Phaseolus lunatus* L., oriundas de sementes crioulas submetidas às concentrações salinas.



As repostas fisiológicas e metabólicas das plantas são dificultadas pelo aumento das forças de retenção, causadas pela presença de sais, prejudicando o seu desenvolvimento desde a germinação, podendo também ocasionar uma redução na produtividade (GOMES *et al.*, 2015). Esse fato pode ser atribuído à diminuição na absorção de água, continuado por hidrólise limitada das reservas alimentares a partir dos tecidos de armazenamento, por conta da translocação deficitária dessas reservas para o eixo embrionário em desenvolvimento (KHAN; PANDA, 2008).

Nas sementes a salinidade pode afetar o percentual de germinação e as características ligadas ao vigor, afetando o estabelecimento de plântulas, reduzindo a velocidade de emergência, na uniformidade, no tamanho inicial, no estabelecimento do estande adequado, fatores que podem influenciar na acumulação da matéria seca (SCHEEREN *et al.*, 2010).

O crescimento das plântulas é reduzido devido os efeitos osmóticos e tóxicos, a taxa de absorção de sódio elevada causa uma sodicidade que aumenta a resistência do substrato, reduzindo o crescimento radicular e o movimento da água através da raiz com uma diminuição da condutividade hidráulica (ACOSTA-MOTOS *et al.*, 2017). Em plântulas de *P. vulgaris* verificou-se redução no crescimento das raízes, com os valores de 11,9 cm (testemunha) e 9,0 cm na concentração  $-3,928 \text{ g NaCl L}^{-1}$  (DALCHIAVON *et al.*, 2016).

As concentrações elevadas de sais provocam redução no crescimento de plântulas, fator este atribuído à restrição hídrica devido a menor velocidade dos processos fisiológicos e bioquímicos ou por dificuldade de hidrólise e mobilização das reservas da semente (NUNES *et al.*, 2016). A simulação salina com NaCl comprometeu variáveis relacionadas ao desenvolvimento do hipocótilo de plântulas de *Phaseolus vulgaris* L. (ARAÚJO *et al.*, 2018).

## CONCLUSÕES

1. A germinação das sementes de variedades crioulas de *P. lunatus* é 98% em concentrações salinas de até  $10 \text{ dS m}^{-1}$ ;
2. As sementes das variedades crioulas Branca, Cancão, Orelha de Vó são mais tolerantes a salinidade de até  $10 \text{ dS m}^{-1}$ .

## AGRADECIMENTOS

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa, fundamental para condução deste trabalho.

## REFERÊNCIAS

- ACOSTA-MOTOS, J. R. *et al.* Plant responses to salt stress: adaptive mechanisms. **Agronomy**, v.7, n.18, p.1-38, 2017.
- ARAÚJO, M. L. *et al.* Efeito de diferentes potenciais osmóticos sobre a germinação e o desenvolvimento de plântulas de feijão Enxofre. **Ensaaios**, v.22, n.3, p.201-204, 2018.
- AYDIN, A. *et al.* Humic acid application alleviate salinity stress of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) plants decreasing membrane leakage. **African Journal of Agricultural Research**, v.7, n.7, p.1073-1086, 2012.
- BEN-GAL, A. *et al.* Is osmotic potential a more appropriate property than electrical conductivity for evaluating whole-plant response to salinity? **Environmental and Experimental Botany**, v.65, n.2, p.232-237, 2009.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília: MAPA/ ACS, 2009. 395 p.
- CALVO-POLANCO, M. *et al.* Mild salt stress conditions induce different responses in root hydraulic conductivity of *Phaseolus vulgaris* over-time. **PloS One**, v.9, n.3, p.1-13, 2014.
- CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. Jaboticabal: FUNEP, 5.ed. 2012. 590 p.

- CAVALCANTE, G. R. S. *et al.* Reação de subamostras de feijão-fava à antracnose. **Summa Phytopathologica**, v.38, n.4, p.329-333, 2012.
- DALCHIAVON, F. C. *et al.* Efeito de estresse salino em sementes de *Phaseolus vulgaris*. **Revista de Ciências Agrárias**, v.39, n.3, p.404-412, 2016.
- DANTAS, B. F. *et al.* Germination, initial growth and cotyledon protein content of bean cultivars under salinity stress. **Revista Brasileira de Sementes**, v.29, n.2, p.106-110, 2007.
- DUARTE, D. M. *et al.* Simulação de déficit hídrico em diferentes genótipos de feijão pela diminuição do potencial osmótico. **Revista Processos Químicos**, v.13, n.1, p.35-41, 2013.
- FERREIRA, L. G. R.; REBOUÇAS, M. A. A. Influência da hidratação e desidratação de sementes de algodão na superação dos efeitos da salinidade na germinação. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.27, n.1, p.609-615, 1992.
- GOMES, G. R. *et al.* Efeito do estresse hídrico e salino no vigor e germinação de sementes de feijão-vagem (*Phaseolus vulgaris* L.). **Cultura Agrônômica**, v.24, n.1, p.83-92, 2015.
- HARTER, L. S. H. *et al.* A. Salinidade e desempenho fisiológico de sementes e plântulas de mogango. **Horticultura Brasileira**, v.32, n.1, p.80-85, 2014.
- HOLANDA, J. S. *et al.* Qualidade da água para irrigação. In: GHEYI, R. H.; DIAS, N. S.; LACERDA, C. F. (Eds.) - **Manejo da salinidade na agricultura**: Estudos básicos e aplicados. Fortaleza, INCT Sal. 2010. 472 p.
- KHAN, M. H.; PANDA, S. K. Alterations in root lipid peroxidation and antioxidative responses in two rice cultivars under NaCl-salinity stress. **Acta Physiologiae Plantarum**, v.30, n.1, p.81-89, 2008.

LOPES, H. M.; BENNETT, M. A.; BRANDÃO, A. A. Drum priming in snap bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seed. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v.13, n.2, p.1-8, 2018.

LIMA, M. F. P. *et al.* Emergência e crescimento inicial de plântulas de albizia submetidas à irrigação com água salina. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.19, n.2, p.106-112, 2015.

MAGUIRE, J. D. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedlings emergence and vigor. **Crop Science**, v.2, n.2, p.176-177, 1962.

MARQUES, E. C. *et al.* Efeitos do estresse salino na germinação, emergência e estabelecimento da plântula de cajueiro anão precoce. **Revista Ciência Agronômica**, v.42, n.4, p.993-999, 2011.

MUNNE-BOSCH, S.; ALEGRE, L. Hormonal cross-talk in plant development and stress responses. **Environmental and Experimental Botany**, v.94, n.1, p.1-2, 2013.

NASCIMENTO, M. G. R. *et al.* Lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) seeds exposed to different salt concentrations and temperatures. **Revista Caatinga**, v.30, n.3, p.738-747, 2017.

NUNES, R. T. C. *et al.* Desempenho germinativo de sementes de girassol submetidas ao estresse salino. **Cultura Agronômica**, v.25, n.1, p.79-92, 2016.

NUNES, L. R. L. *et al.* Germination and vigour in seeds of the cowpea in response to salt and heat stress. **Revista Caatinga**, v.32, n.1, p.143-151, 2019.

PESSOA, L. G. M. *et al.* Composição química e salinidade do lixiviado em dois solos cultivados com cebola irrigada com água salina. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v.5, n.3, p.406-412, 2010.

- RICHARDS, L. A. **Diagnóstico y rehabilitación de suelos salinos y sódicos**. México: Departamento de Agricultura de los Estados Unidos de América, 1954. 172 p. (Manual de agricultura, 60).
- ROSALES, M. A. *et al.* Physiological analysis of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivars uncovers characteristics related to terminal drought resistance. **Plant Physiology and Biochemistry**, v.56, n.1, p.24-34, 2012.
- RUIZ, H.A. *et al.* Características físicas de solos salinos sódicos submetidos a parcelamento da lâmina de lixiviação. **Revista de la Ciencia del Suelo y Nutrición Vegetal**, v.6, n.3, p.1-12, 2006.
- SANTOS, D. *et al.* Produtividade e morfologia de vagens e sementes de variedades de fava no Estado da Paraíba. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.37, n.10, p.1407-1412, 2002.
- SCHEEREN, B. R. *et al.* Qualidade fisiológica e produtividade de sementes de soja. **Revista Brasileira de Sementes**, v.32, n.3, p.035-041, 2010.
- SILVA, R. C.; GRZYBOWSKI, C. R. S.; PANOBIANCO, M. Vigor de sementes de milho: influência no desenvolvimento de plântulas em condições de estresse salino. **Revista Ciência Agronômica**, v.47, n.3, p.491-499, 2016.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5.ed. Porto Alegre, RS: Artmed, 2013. 819p.
- TAIZ, L. *et al.* **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. 6.ed. Porto Alegre: Artmed, 2017. p.713-754.
- VIÇOSI, K. A. *et al.* Estresse hídrico simulado em genótipos de feijão, milho e soja. **Revista de Agricultura Neotropical**, v.4, Suplemento 1, p.36-42, 2017.

**Incidência fúngica em sementes crioulas de *Phaseolus lunatus* L.**

(A ser submetido ao periódico - Canadian Journal Science)

## **Incidência fúngica em sementes crioulas de *Phaseolus lunatus* L.**

**Resumo** - O inóculo presente na semente poderá resultar em aumento progressivo de uma dada doença no campo, podendo reduzir o valor comercial da cultura, por isso é importante a realização de testes de sanidade em sementes, uma vez que estes também podem esclarecer as causas da baixa germinação, comum em amostras com elevados índices de infecção. Diante disso o objetivo neste trabalho foi verificar a ocorrência de fungos em sementes de *P. lunatus*. A pesquisa foi realizada com sementes de seis variedades crioulas: Branca, Cancão, Cavalinha, Manteiguinha, Orelha de Vó e Rainha. Na avaliação da qualidade sanitária e fisiológica foram analisadas as seguintes variáveis: ocorrência fúngica, germinação, primeira contagem e índice de velocidade de germinação. O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso, sendo que para a ocorrência fúngica foi realizada uma análise de variância baseada no modelo generalizado com distribuição de Poisson, com posterior aplicação do teste de Tukey e para a qualidade fisiológica foi realizada análise de variância pelo teste F, com posterior agrupamento de médias, a 5% de probabilidade. Nas sementes, dentro e entre cada variedade crioula houve variação fúngica, o percentual de germinação e a primeira contagem foram superiores a 90% para as sementes das cinco variedades, exceto para a Cavalinha. Dessa forma, os gêneros de fungos presentes nas sementes das variedades crioulas de *P. lunatus* são *Alternaria* sp., *Aspergillus* sp., *Basidiopodia* sp., *Cladosporium* sp., *Fusarium* sp., *Penicillium* sp., *Rizhopus* sp., *Rizoctonia* sp. e *Trichoderma* sp. O *Penicillium* sp. é fungo com maior incidência entre as variedades crioulas de *P. lunatus*. A qualidade fisiológica das variedades Branca, Cancão, Manteiguinha, Orelha de Vó, e Rainha não foi alterada com a presença de fungos, com porcentagem de germinação superior a 98%.

Palavras-chave: germinação, vigor, patógenos.

**Abstract** - Studies regarding the incidence of pathogens in Lima Bean (*Phaseolus lunatus* L.) native from Brazil are scarce. This work aims to verify the occurrence of fungi in the seeds of *P. lunatus*. The research was carried out in six Brazilian landraces: Branca, Cancão, Cavalinha, Manteiguinha, Orelha de Vó, and Rainha. The following variables were analyzed in health and physiological quality assessment: fungal occurrence, germination percentage, first count of germination, and germination speed index. The experimental design was completely randomized. The differences in fungal incidence among landraces were investigated using an analysis of variance based on the generalized model with Poisson distribution, with Tukey's test's subsequent application. The physiological quality was investigated applying an analysis of variance using the F test and grouping of averages, at 5% probability. There was fungal occurrence variation both among and inside each landrace. The germination percentage and the first count were higher than 90% for the seeds of five landraces, except for Cavalinha. The fungal genera present in the seeds were *Alternaria* sp., *Aspergillus* sp., *Basidiopodia* sp., *Cladosporium* sp., *Fusarium* sp., *Penicillium* sp., *Rhizopus* sp., *Rhizoctonia* sp., and *Trichoderma* sp. The *Penicillium* sp. was the fungus with the highest incidence in the landraces of *P. lunatus*. The physiological quality of Branca, Cancão, Manteiguinha, Orelha de Vó and Rainha was not altered by the presence of fungi, showing qualities superior to 98%.

Keywords: germination, vigor, pathogens.

## Introdução

A fava (*Phaseolus lunatus* L.) é a segunda leguminosa de maior importância do gênero *Phaseolus*, devido ao alto valor nutritivo, uma vez que contém proteínas, sais minerais e vitaminas que são essenciais para a nutrição humana, sendo uma alternativa de alimento e renda para a população da região Nordeste (Penha, 2014).

A espécie é cultivada em vários estados brasileiros, demonstrando capacidade de adaptação maior que o feijão-comum (*Phaseolus vulgaris* L.), no entanto, o seu cultivo é limitado devido à baixa tecnologia, por isso acredita-se que a principal razão para o cultivo relativamente restrito é devido a maior tradição do consumo de feijão-comum (Guimarães et al., 2007).

Estudos com variedades de *Phaseolus* demonstraram uma alta sensibilidade a doenças, devido à instabilidade na safra, este fator ocorre por conta das águas de inverno serem propícias ao surgimento de patógenos (Azevedo et al., 2015), causando uma elevada umidade resultando na proliferação de patógenos, que podem causar danos diretos, servindo como porta de entrada para diversos fungos que degeneram as sementes, provocando baixa no potencial, podendo levá-las a morte (Ali et al., 2014), as sementes são o principal modo de reprodução para maioria das plantas (Kozlowski e Gunn, 1972), por esse motivo é importante conhecer as interações entre sementes e patógenos, principalmente por fungos que são transmitidos através do solo e no armazenamento.

A infecção das sementes pode ocorrer nos estágios pré e pós-dispersão (Gallery et al., 2007), portanto, a utilização de variedades com sementes resistentes são de extrema importância para os pequenos agricultores, especificamente do Nordeste brasileiro, uma vez que a maioria das sementes utilizadas são

provenientes da agricultura familiar e, *P. lunatus* ainda é uma leguminosa pouco estudada em relação aos fitopatógenos (Brito, 2017).

A ocorrência de microrganismos, patogênicos ou não, é uma característica estudada na qualidade sanitária das sementes, por afetar a viabilidade das mesmas, causando efeitos danosos, como reduções da porcentagem de germinação das sementes e vigor das suas plântulas (Parisi, 2012), assim a avaliação da qualidade sanitária auxilia na comparação da qualidade de diferentes lotes de sementes e sua utilização comercial (Aimi et al., 2016).

Um dos mais importantes microrganismos que infectam as sementes são os fungos, devido sua proliferação que causam doenças, apodrecimento das sementes no solo e podem causar a deterioração das sementes no período de armazenamento (Martins et al., 2015). Em *P. lunatus*, os fungos com maior destaque são *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*, *Colletotrichum lindemuthianum*, *Macrophomina phaseolina*, *Phomopsis* sp., *Rizoctonia solani*, *Sclerotinia sclerotiorum* (Paula Júnior et al., 2008; Peske et al., 2012).

Diante do exposto, o objetivo neste trabalho foi verificar a ocorrência de fungos em sementes crioulas de *P. lunatus*.

### **Material e Métodos**

Sementes de seis variedades crioulas de *P. lunatus*: Branca, Cancão, Cavalinha, Manteiguinha, Orelha de Vó e Rainha, foram adquiridas de agricultores familiares provenientes do município de Queimadas, Paraíba, as quais estavam armazenadas em garrafas de polietileno tereftalato (PET), juntamente com cascas de laranja, bulbilhos de alho e pimenta do reino.

As análises para avaliação da qualidade sanitária e fisiológica, descritas a seguir, foram realizadas nos Laboratórios de Fitopatologia e de Análise de

Sementes, pertencentes ao Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Paraíba.

**Ocorrência fúngica** - o teste de sanidade foi conduzido utilizando-se o método de papel-filtro (*Blotter Test*), de acordo com a metodologia proposta por Neergaard (1979) com distribuição de 200 sementes de cada variedade de *P. lunatus*, em 10 repetições de 20 sementes todas igualmente espaçadas. O plaqueamento foi realizado em placas de Petri de 15 cm de diâmetro, contendo três papéis de filtro previamente esterilizados, umedecidos com água destilada e esterilizada (ADE) para cada variedade estudada. As sementes foram submetidas a uma desinfestação superficial em solução de álcool etílico a 70% por três minutos, hipoclorito de sódio a 1% por cinco minutos e duas lavagens em ADE por um minuto, sendo dispostas sob papel-filtro esterilizado, em placas de Petri e incubadas à temperatura de  $25 \pm 2$  °C, durante sete dias, sob fotoperíodo de 12h. A avaliação da incidência dos fungos foi realizada através de microscópio estereoscópico e óptico, sendo os dados expressos em porcentagem de sementes infestadas.

**Teste de Germinação** - para cada tratamento foram utilizadas 200 sementes, as quais foram divididas em quatro repetições de 50, distribuídas sobre duas folhas de papel toalha, cobertas com uma terceira e organizadas em forma de rolo. O papel toalha foi umedecido com água destilada na quantidade equivalente a 3,0 vezes a massa do papel não hidratado. Os rolos foram acondicionados em sacos plásticos transparentes, de 0,04 mm de espessura, com a finalidade de evitar a perda de água por evaporação e colocados em germinador do tipo *Biological Oxygen Demand* (B.O.D.) regulado para o regime de temperatura constante de 25 °C com fotoperíodo de oito horas, utilizando-se lâmpadas fluorescentes tipo luz do dia (4 x 20 W) (Brasil, 2009).

**Primeira contagem de germinação** - realizada juntamente com o teste de germinação, determinando-se a porcentagem de plântulas normais no quinto dia após a instalação do teste e, os resultados foram expressos em porcentagem (Brasil, 2009).

**Índice de velocidade de germinação** - sendo realizado conjuntamente com o teste de germinação, efetuando-se contagens diárias das plântulas normais, do quinto ao nono dia, à mesma hora e, o índice foi calculado empregando-se a fórmula proposta por Maguire (1962).

Para avaliação da qualidade fisiológica, o delineamento experimental foi o inteiramente ao acaso, com seis variedades de *P. lunatus*, com quatro repetições cada variável, os dados não seguem uma distribuição normal, sendo realizada uma análise de variância baseada no modelo generalizado com distribuição de Poisson, e posterior aplicação do teste de Tukey a 5% de probabilidade. As análises estatísticas foram realizadas através do software Genes (Cruz, 2013) e R versão 3.0.3 (R Core Team, 2014).

## Resultados

Os dados da análise de variância, modelo baseado na distribuição de Poisson (Tabela1) demonstra que a ocorrência de fungos nas sementes de variedades crioulas de *Phaseolus lunatus*, foi significativo a 1% de probabilidade

Nas sementes das variedades crioulas de *P. lunatus* observa-se a ocorrência de fungos, com variação dentro de cada variedade, demonstrando que as mesmas podem transportar interna ou externamente gênero ou espécies fúngicas. Nas sementes da variedade Cavalinha constatou-se maior incidência dos fungos *Cladosporium* sp. (3,40%), seguido de *Fusarium* sp. (2,15%) e *Alternaria* sp. (1,60%). O fungo *Aspergillus* sp. verificado nas sementes das variedades

Manteiguinha e Orelha de Vó nas porcentagens de 4,45 e 1,65% respectivamente. Na variedade Rainha houve maiores porcentagens de *Aspergillus* sp. (3,55%), *Aspergillus niger* (3,15%) e *Rizophus* sp. (3,55%). O *Penicillium* sp., encontrava-se em maior porcentagem nas sementes das variedades Branca (3,05%), Cancão (4,90%), Manteiguinha (4,05%) e Orelha de Vó (1,20%). Os fungos com menor incidências foram *Alternaria* sp. e *Basiodiplodia* sp. para a maioria das variedades (Figura 1).

Pelos dados da Tabela 3 verifica-se as menores porcentagens finais de germinação de 45% e na primeira contagem de 37%, além do índice de velocidade de germinação (3,68) nas sementes da variedade Cavalinha, o que pode ser atribuído a maior ocorrência de fungos verificada neste estudo. Nas demais variedades crioulas a germinação, primeira contagem e índice de velocidade de germinação foram acima 98%, 88% e 9,85, respectivamente.

### Discussão

A incidência fúngica entre as sementes das variedades crioulas de *P. lunatus* é notável, tendo diferenças entre as espécies fúngicas como *Aspergillus* sp. e *Penicillium* sp., o que podem estar relacionadas ao tempo que as mesmas foram submetidas ao armazenamento, bem como as condições em que foram condicionadas no ambiente (Gomes et al., 2016).

Os fungos observados neste trabalho são de importância econômica relevante por serem considerados de armazenamento, podendo causar redução no percentual germinativo pelo apodrecimento das sementes, ocasionando também prejuízos nas lavouras por conta do tombamento de plântulas (Lazarotto et al., 2012).

Alguns autores relataram a associação de *Aspergillus* sp. e *Penicillium* sp. às sementes de leguminosas (Santos et al., 2016), sendo o *Penicillium* sp. um dos principais fungos associados à semente no decorrer do armazenamento que pode interferir no estado de semeadura através do apodrecimento das sementes (Netto et al., 1998).

Os gêneros fúngicos *Fusarium* sp. e *Cladosporium* sp. foram os de maior ocorrência nas sementes da variedade Cavalinha, sendo os fungos *Fusarium* sp., *Penicillium* sp. e *Aspergillus* sp., os que desenvolvem-se rapidamente, levando à redução da viabilidade das sementes, modificação da cor, enrugamento e produção de toxinas no gênero *Phaseolus* (Almeida et al., 2013). Em sementes de *P. lunatus* com elevada umidade, quando semeadas após terem sido submetidas à condição de armazenamento inadequada, foram observados fungos do tipo *Aspergillus* spp. (Mendonça et al., 2009).

Quanto a incidência de *Fusarium* spp., pode ocorrer com maior severidade em regiões onde as temperaturas são altas, mesmo quando são empregadas variedades resistentes (Koike e Gordon, 2015), o controle deste gênero também inclui a utilização das sementes e mudas tratadas antes do plantio no decorrer do desenvolvimento da cultura (McGovern, 2015). Estudos têm relatado que *Fusarium* spp. não reduz a germinação de sementes, no entanto, causa deterioração impedindo o desenvolvimento radicular da plântula (Munkvold e O'Mara, 2002).

A maior viabilidade e vigor das sementes armazenadas dos cultivares Branca, Cancão, Manteiguinha, Orelha de Vó e Rinha se deve a maior resistência ao ataque fúngico pelas estruturas das sementes que normalmente são defendidas por barreiras físicas ou por compostos químicos (Tiansawat et al., 2014). O

tegumento mais espesso, resisti ao ataque de patógenos, servindo apenas como meio de transporte (Ghosh et al., 2018).

Vários gêneros de fungos como *Aspergillus*, *Fusarium*, *Alternaria*, *Penicillium*, *Rhizoctonia*, podem permanecer associados às sementes, deteriorando-a ou permanecendo viáveis devido a associação de suas cepas à algumas espécies podendo ter efeitos neutros ou positivos (Sarmiento et al., 2017) na infecção de plântulas (Suleiman e Omafefe, 2013).

As variedades com sementes de melhor qualidade fisiológica são menos suscetíveis às condições de campo, como estresses após a semeadura, e menos sensíveis ao ataque de patógenos no início do desenvolvimento, proporcionando uniformidade e rápido desenvolvimento do estande (Melo et al., 2016).

A transmissão fúngica por sementes pode ocorrer por gerações, facilitando a sobrevivência (Mitter et al., 2016). O vigor e a viabilidade da variedade Cavalinha foram reduzidos devido a menor resistência do tegumento que permitiu a infecção ocasionando a deterioração das sementes através peroxidação lipídica (Nithya et al., 2017), ocasionando a desorganização das membranas, resultando em vazamento de solutos, diminuição da qualidade fisiológica e menor vigor das sementes (Hajiabbasi et al., 2015), associados a produção e liberação de amilases e polifenóis que alteram a estrutura das sementes em resposta a ação de enzimas extracelular fúngica reduzindo a viabilidade das sementes (Santos et al., 2018).

Estudos avaliando a viabilidade e a sanidade das sementes de nove variedades crioulas de milho de agricultores paraibanos, Araújo et al. (2013) verificaram uma germinação variando entre 0 e 95%, quanto aos fungos incidentes foram detectados *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp., *Fusarium* sp., *Rhizopus* sp., *Cephalosporium* sp. e *Cladosporium* sp.

Os fungos *Aspergillus* e *Fusarium* são conhecidos como dominantes, porque produzem substâncias como aflatoxinas, citrinina, alcaloides da cravagem do centeio, fumonisinas, patulina, tricotecenos, zearalenona, ocratoxina, e seus derivados (Cobos et al, 2018) que afetam o vigor de plântulas (Crocker et al., 2016).

### Conclusões

Os gêneros de fungos presentes nas sementes das variedades crioulas de *P. lunatus* são *alternaria* sp., *Aspergillus* sp., *Basiodiplodia* sp., *Cladosporium* sp., *Fusarium* sp., *Penicillium* sp., *Rizhopus* sp., *Rizoctonia* sp. e *Trichoderma* sp.;

O *Penicillium* sp. é fungo com maior incidência entre as variedades crioulas de *P. lunatus*;

A qualidade fisiológica das variedades Branca, Cancão, Manteiguinha, Orelha de Vó, e Rainha não é alterada com a presença de fungos com uma qualidade superior a 98%.

### Referências

- Aimi, S.C., Araujo, M.M., Muniz, M.F.B. and Walker, C. 2016. Teste de sanidade e germinação em sementes de *Cabralea canjerana* (Vell.) Mart. Cienc. Florest. 26: 1361-1370.
- Ali M.R., Rahman, M.M. and Ahammad, K.U. 2014. Effect of relative humidity, initial moisture content and storage container on soybean (*Glycine max* L. Meril.) seed quality. Bangl. Journ. of Agric. Res. 39: 461-469.
- Almeida, A.P.V., Silva, E.S., Silva, V.P., Zago, B.W. and Oliveira, B.S. 2013. Qualidade física, fisiológica e sanitária de sementes de feijoeiro (*Phaseolus*

*vulgaris* L.) provenientes domunicípio de Tangará da Serra - MT. Enc. Biosf. Cen. Cien. Conh., 9: 2241-2249.

Araújo, S.L., Ferreira, T.C., Santos, A.S. and Corrêa, E.B. 2013. Sanidade de sementescruiolas de milho armazenadas por agricultores familiares na Paraíba. Cad. de Agroec. 8: 1-4.

Azevedo, C.V.G., Ribeiro, T., Silva, D.A., Carbonell, S.A.M. and Chiorato, A.F. 2015. Adaptabilidade, estabilidade e resistência a patógenos em genótipos de feijoeiro. Pesq. Agrop. Bras. 50: 912-922.

Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. 2009. Regras para análise de sementes. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília: MAPA/ACS, 395p.

Brito, M.V. 2017. Caracterização morfoagronômica e seleção de acessos de feijão-fava resistentes ao *Colletotrichum truncatum*. 65f. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento) - Universidade Federal do Piauí, Teresina.

Cobos, C.J., Tengey, T.K., Balasubramanian, V.K., Williams, L., Sudini, H.K., Varshney, R.K., Falalou, H., Burow, M.D. and Mendu, V. 2018. Employing peanut seed coat cell wall mediated resistance against *Aspergillus flavus* infection and aflatoxin contamination. Preprints. 2-26.

Crocker, E.V., Lanzafane, J. J., Karp, M.A. and Nelson, E.B. 2016. Overwintering seeds as reservoirs for seedling pathogens of wetland plant species. Ecosphere. 7:2-14.

Cruz, D.C. 2013. GENES - a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. Act. Scient. Agron. 35: 271-276.

- Gallery, R.E., Dalling, J.W. and Arnold, A.E. 2007. Diversity, host affinity, and distribution of seed-infecting fungi: a case study with *Cecropia*. *Ecology*. 88: 582-588.
- Gomes, R.S.S., Nunes, M.C., Nascimento, L.C., Souza, J.O. and Porcino, M.M. 2016. Eficiência de óleos essenciais na qualidade sanitária e fisiológica em sementes de feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.). *Rev. Bras. de Plant. Med.* 18: 279-287.
- Ghosh, T., Biswas, M.K., Guin, C. and Aikat, P.R.K. 2018. A review on seed borne mycoflora associated with different cereal crop seeds and their management. *PCBMB* 19: 107-117.
- Guimarães, W.N., Martins, L.S.S., Silva, E.F., Ferraz, G.M.G. and Oliveira, F.J. 2007. Caracterização morfológica e molecular de acessos de feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.). *Rev. Bras. de Eng. Agríc. e Amb.* 11: 37-45.
- Hajiabbasi, M., Tavakkol A. R. and Abbasib, A. 2015. Effects salicylic acid and ethylene on germination improvement of deteriorated seed of *Glycine max* (L.). *Crop Res.* 50: 86-94.
- Koike, S.T. and Gordon, T.R. 2015. Management of *Fusarium* wilt of strawberry. *J Crop Prot.* 73: 67-72.
- Kozlowski, T.T. and Gunn, C.R. 1972. Importance and characteristics of seeds. (Ed.), p.1-20. In: Kozlowski, T.T. (Ed.). *Seed biology - importance, development, and germination 1*. New York and London: Academic Press.
- Lazarotto, M., Muniz, M.F.B., Beltrame, R., Santos, A.F., Maciel, C.G. and Longhi, S.J. 2012. Sanidade, transmissão via semente e patogenicidade de fungos em sementes de *Cedrela fissilis* procedentes da região sul do Brasil. *Cienc. Flor.* 22: 493-503.

- Maguire, J.D. 1962 Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. *Crop Sci.* 2: 176-177.
- Martins, A.L., Santana, E.V.P., Silva Junior, J.L., Carvalho, J.J. and Silva, E.S. 2015. Fitopatógenos associados às sementes de mucuna-preta do banco de germoplasma da universidade do Tocantins armazenadas em diferentes condições. *Tecn. e Ciência Agrop.* 9: 1-3.
- McGovern, R.J. 2015. Management of tomato diseases caused by *Fusarium oxysporum*. *J Crop Prot.* 73: 78-92.
- Melo, D., Brandão, W.T.M., Nóbrega, L.H.P. and Werncke, I. 2016. Sementes de soja convencional e Roundup Ready (RR), produzida para consumo próprio e comercial. *Rev. de Ciênc. Agr.* 39: 300-309.
- Mendonça, M.B., Hidalgo, A.F. and Chaves, F.C.M. 2009. Isolamento e identificação de fungos com potencial patogênico para a saúde humana em material vegetal de uso medicinal comercializado em Manaus. *Hort. Bras.* 27: 1208-1214.
- Mitter, B., Pfaffenbichler, N., and Sessitsch, A. 2016. Plant-microbe partnerships in 2020. *Microb. Biotechnol.* 9, 635-640.
- Munkvold, G.P. and O'mara, J.K. 2002. Laboratory and growth chamber evaluation of fungicidal seed treatments for maize seedling blight caused by *Fusarium* species. *Plant Dis.* 86: 143-150.
- Neergaard, P. 1979. Seed pathology. London: Macmillan. 2: 1191.
- Nithya, N., Renugadev, J., Bhaskaran, M. and Johnjoel, A. 2017. Influence of temperature and moisture on seed viability period in sunflower seeds. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.* 6:12, 820-827.

- Netto, D.M., Pinto, N.F.J.A., Oliveira, A.C., Borba, C.S. and Andrade, R.V. 1998. Qualidade fisiológica e sanitária de sementes de sorgo danificadas. *Rev. Bras. Sementes*. 20: 134-140.
- Paula Júnior, T.J., Vieira, R.F., Teixeira, H., Coelho, R.R., Carneiro, J.E.S., Andrade, M.J.B., and Rezende, A.M. 2008. Informações técnicas para o cultivo do feijoeiro-comum na região central brasileira: 2007-2009. Viçosa MG. EPAMIG-CTZM.
- Parisi, J.J.D. 2012. Associação entre fungos e a viabilidade de sementes de *Inga vera* subsp. *affinis* (Dc.) T. D. Penn. durante o armazenamento. 98f. Tese (Doutorado em Engenharia Agrícola) - Faculdade de Engenharia Agrícola, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.
- Penha, J.S. 2014. Determinação da taxa de fecundação cruzada natural e diversidade genética em feijão-fava por marcadores microsatélites. 36f. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento) - Universidade Federal do Piauí, Teresina.
- Peske, S.T.; Villela, F.A.; Meneghello, G.E. 2012. Sementes: fundamentos científicos e tecnológicos. Pelotas. Editora Universitária. 3.ed. 573p.
- Sarmiento, C., Zalamea, P.C., Dalling, J.W., Davis, A.S., Stump, S.M., U'Ren, J.M. and Arnold, A.E. 2017. Soilborne fungi have host affinity and host-specific effects on seed germination and survival in a lowland tropical forest. *PNAS*, 114, 42:11458–11463.
- Santos, A.R.B., Simeão, M., Barros, P.S., Cavalcante, G.R.S. and Carvalho, E.M.S. 2016. Seleção de subamostras de feijão-fava para resistência à antracnose. *BIOENG*. 9: 268-278.

Santos, A.P., Hassemer, G., Meiado, M.V. 2018. Seed storage of Brazilian cacti species in different threat categories. *Plant Species Biol.* 33: 1-9.

Suleiman, M.N. and Omafè, O.M. 2013. Activity of three medicinal plants on fungi isolated from stored maize seeds (*Zea mays* (L)). *Glob. J. Med. Plant Res.* 1: 77-81.

Tiansawat, P., Davis, A.S., Berhow, M.A., Zalamea, P.C., and Dallin, J.W. 2014. Investment in seed physical defence is associated with species' light requirement for regeneration and seed persistence: evidence from *Macaranga* species in Borneo. *PLoS ONE.* 9, 6: e99691.

Tabela 1. Análise de variância baseada no modelo generalizado na distribuição de Poisson, verificando a ocorrência de fungo nas sementes de variedades crioulas de *Phaseolus lunatus* L.

| FV         | GL     | Desvio<br>Padrão | GL.<br>Desvio | Dev.<br>Pr(>Chi) |
|------------|--------|------------------|---------------|------------------|
| Variedades | 1      | 1198             | 2882.1        | 0.7249           |
| Fungos     | 1      | 1197             | 2791.9        | 0.000 ***        |
| AIC        | 3947.2 |                  |               |                  |

Tabela 2. Análise de variância dos parâmetros: germinação, primeira contagem e índice de velocidade de germinação nas sementes de variedades crioulas de *Phaseolus lunatus* L.

| FV         | GL | G        | PCG      | IVG    |
|------------|----|----------|----------|--------|
| Variedades | 5  | 1911.36* | 2426.56* | 50.32* |
| Resíduo    | 18 |          |          |        |
| CV(%)      |    | 7,42     | 6,20     | 4,27   |

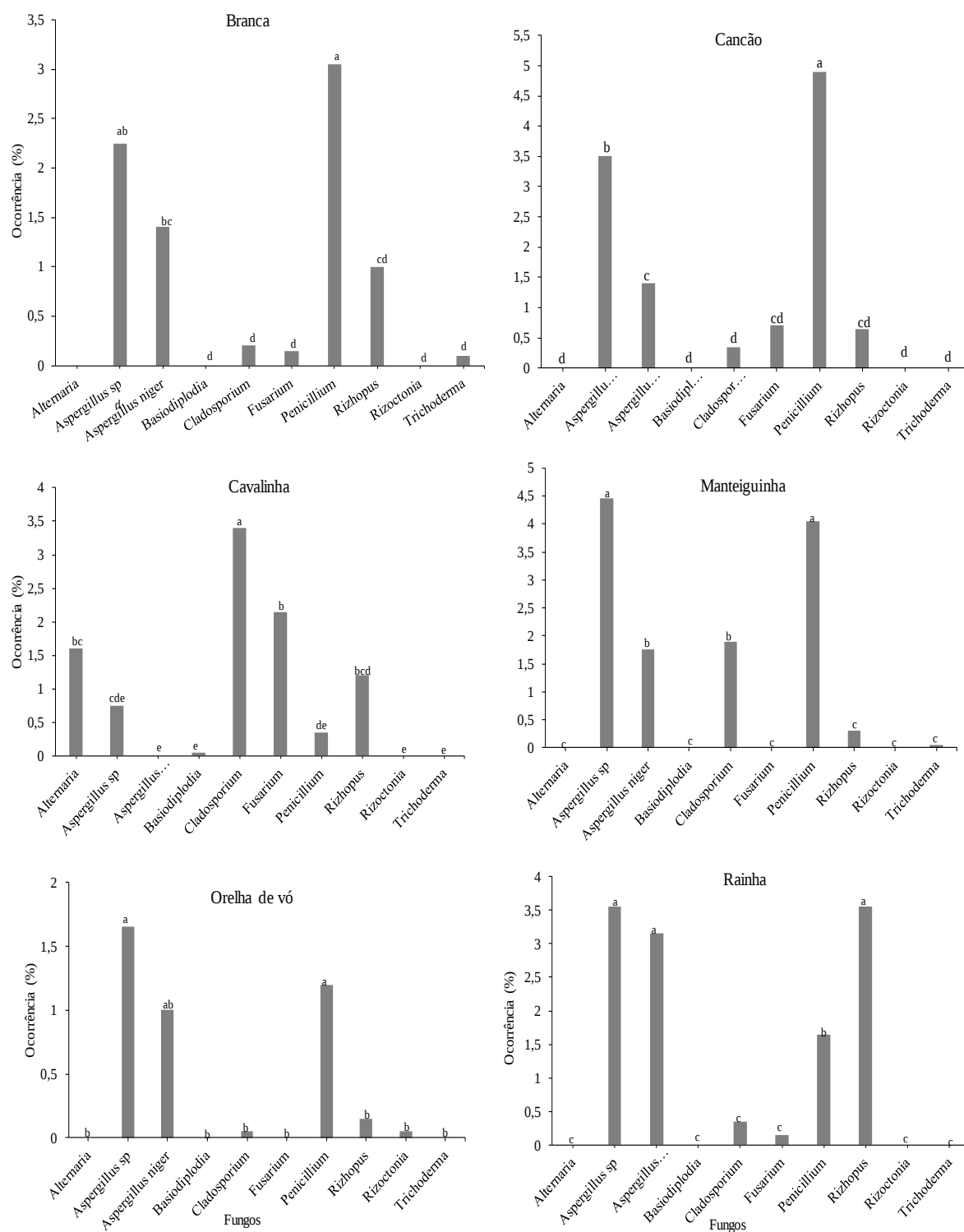
Germinação (G), primeira contagem (PCG) e índice de velocidade de germinação (IVG).

Tabela 3. Germinação, primeira contagem e índice de velocidade de germinação (IVG) das sementes de variedades crioulas de *Phaseolus lunatus* L.

| Variedades   | Germinação (%) | Primeira contagem (%) | IVG    |
|--------------|----------------|-----------------------|--------|
| Branca       | 99a            | 98ab                  | 9,85b  |
| Cancão       | 100a           | 100a                  | 9,95b  |
| Cavalinha    | 45b            | 37c                   | 3,68c  |
| Manteiguinha | 98a            | 95ab                  | 9,45b  |
| Orelha de Vó | 100a           | 100a                  | 9,95b  |
| Rainha       | 98a            | 88b                   | 14,85a |
| DMS          | 14,94          | 11,98                 | 0,92   |
| CV(%)        | 7,42           | 6,2                   | 4,27   |

Médias seguidas da mesma letra, nas colunas, não diferem significativamente entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Figura 1. Ocorrência fúngica em sementes de variedades crioulas de *Phaseolus lunatus* L. Médias seguidas da mesma letra, nas colunas, não diferem significativamente entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.



## CONCLUSÃO GERAL

A análise cariotípica envolvendo 19 variedades de *Phaseolus lunatus* L., confirmou a existência de estabilidade cariotípica em relação ao número cromossômico ( $2n = 22$ ) e padrão de bandas heterocromáticas, onde são registradas 22 bandas CMA<sup>+</sup>/DAPI<sup>-</sup> pericentroméricas e duas bandas CMA<sup>+</sup>/DAPI<sup>-</sup> terminais;

Embora em *P. lunatus* ocorra ampla variação no tamanho, forma e cor das suas sementes, estas diferenças morfológicas não são correlacionadas a caracteres cariotípicos. Desta forma, variação intraespecífica citológica na espécie provavelmente é inexistente, embora a análise de plantas oriundas dos principais centros de origem ou de plantas silvestres possa ser promissora para incrementar as discussões sobre a estabilidade cariotípica em *P. lunatus*;

A análise de variância evidenciou que há variabilidade genética entre as variedades crioulas de *Phaseolus lunatus* L., para todas as características avaliadas;

As variedades mais dissimilares foram Carrapato e Miúda, Orelha de Vó e Miúda; Orelha de Vô e Coquinho Moita Vermelha, Rixinou e Miúda, Sinhazinha e Coquinho Moita Vermelha;

As variáveis que mais contribuíram para a divergência genética entre as variedades crioulas de *P. lunatus* foram comprimento, largura, forma e padrão de tegumento das sementes.

As variedades Orelha de Vô, Orelha de Vó, Raio de Sol, Coquinho, Fava Feijão, Coquinho Moita Vermelha e Miúda são as indicadas para obtenção de genótipos superiores em programas de melhoramento interpopulacional;

Com base nas Regras para Análise de Sementes (RAS) para o gênero *Phaseolus*, observou-se uma boa qualidade fisiológica das sementes das variedades crioulas de *Phaseolus lunatus* Branca, Cancão, Eucalipto PE, Manteiguinha, Orelha de Vó e Rainha, com germinação acima de 90%;

As sementes de variedade crioulas de *P. lunatus* são diferenciadas quanto a sua viabilidade através do teste de tetrazólio;

A composição química das sementes das variedades crioulas de *P. lunatus* é diferenciada, sendo aquelas da Eucalipto PE com maior teor de carboidratos e da variedade Raio de sol com elevado teor de proteína;

A repetibilidade das variáveis avaliadas é alta e a avaliação com 4 repetições nos testes de germinação e vigor permitem boa representatividade da variabilidade entre as variedades crioulas de *P. lunatus*;

A correlação positiva entre os testes de germinação e o vigor das sementes crioulas de *P. lunatus* é importante, pois com isso pode identificar a existência de interrelação entre estes testes;

A germinação das sementes de variedades crioulas de *P. lunatus* é 98% em concentrações salinas de até 10 dS m<sup>-1</sup>;

As sementes das variedades crioulas Branca, Cancão, Orelha de Vó são mais tolerantes a salinidade de até 10 dS m<sup>-1</sup>;

Os gêneros de fungos presentes nas sementes das variedades crioulas de *P. lunatus* são *Alternaria* sp., *Aspergillus* sp., *Basidiopodia* sp., *Cladosporium* sp., *Fusarium* sp., *Penicillium* sp., *Rizhopus* sp., *Rizoctonia* sp. e *Trichoderma* sp.;

O *Penicillium* sp. é fungo com maior incidência entre as variedades crioulas de *P. lunatus*;

A qualidade fisiológica das variedades Branca, Cancão, Manteiguinha, Orelha de Vó, e Rainha não é alterada com a presença de fungos com uma qualidade superior a 98%.