



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
PRÓ-REITORIA DE GRADUAÇÃO
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS E FLORESTAIS
CURSO DE AGRONOMIA

WILLIANNY KAREM DE SOUSA

**CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E MOLECULAR DE ACESSOS DE
FEIJÃO-CAUPI**

MOSSORÓ

2020

WILLIANNY KAREM DE SOUSA

**CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E MOLECULAR DE ACESSOS DE
FEIJÃO-CAUPI**

Monografia apresentada a Universidade
Federal Rural do Semi-Árido como requisito
para obtenção do título de Bacharel em
Agronomia.

Orientador: Prof. Dr. José Torres Filho

MOSSORÓ

2020

©Todos os direitos estão reservados à Universidade Federal Rural do Semi-Árido. O conteúdo desta obra é de inteira responsabilidade do (a) autor (a), sendo o mesmo, passível de sanções administrativas ou penais, caso sejam infringidas as leis que regulamentam a Propriedade Intelectual, respectivamente, Patentes: Lei nº 9.279/1996, e Direitos Autorais: Lei nº 9.610/1998. O conteúdo desta obra tornar-se-á de domínio público após a data de defesa e homologação da sua respectiva ata, exceto as pesquisas que estejam vinculadas ao processo de patenteamento. Esta investigação será base literária para novas pesquisas, desde que a obra e seu (a) respectivo (a) autor (a) seja devidamente citado e mencionado os seus créditos bibliográficos.

S725c Sousa, Willianny Karem de.

Caracterização morfológica e molecular de
acessos de feijão-caupi / Willianny Karem de
Sousa. - 2020.

45 f. : il.

Orientador: José Torres Filho.

Monografia (graduação) - Universidade Federal
Rural do Semi-árido, Curso de Agronomia, 2020.

1. Descritores morfológicos. 2. Marcadores
RAPD. 3. Vigna unguiculata (L.) Walp. 4. Caupi.
5. Diversidade genética. I. Torres Filho, José,
orient. II. Título.

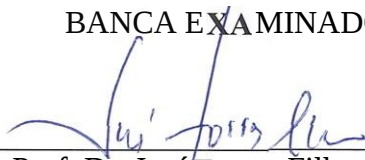
WILLIANNY KAREM DE SOUSA

CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E MOLECULAR DE ACESSOS
DE FEIJÃO-CAUPI

Monografia apresentada a Universidade
Federal Rural do Semi-Árido como
requisito para obtenção do título de
Bacharel em Agronomia.

Defendida em: 11 / 12 / 2020.

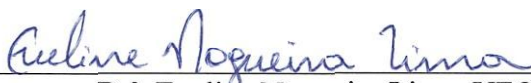
BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. José Torres Filho, UFERSA
Presidente



Profª. Drª. Ioná Santos Araújo Holanda, UFERSA
Membro Examinador



Drª. Eveline Nogueira Lima, UFC
Membro Examinador

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Deus, por me amar incondicionalmente, por iluminar meu caminho e pela provisão, pois sem Ele eu não teria conseguido.

À minha amada filha, Lara Manuella, e meu amado esposo Neto, pela compreensão, paciência e apoio durante os anos de graduação em que estive ausente, mesmo presente. Vocês são fundamentais na minha vida. Amo vocês!

Aos meus queridos pais que amo e admiro, Maria do Carmo (Carminha) e Antonio Washington, por todo amor em forma de dedicação, apoio e incentivo. Pela vibração a cada vitória alcançada e pelas vezes em que chorou comigo. Obrigada pelo colo, pelo amparo, pelas orações e por sempre acreditarem em mim. Vocês são incomparáveis!

As minhas irmãs e irmão, Wany, Willienny, Gabriela e Wesley por fazerem parte da minha vida e, por compreenderem minha ausência nos almoços e reuniões em família. Em especial, quero externar minha gratidão a minha amada mana, Wany, por tanto amor, carinho e cuidado para comigo e minha filha. Fazendo, muitas vezes, o papel de mãe, preocupada, brigando por motivos justos, mas sempre torcendo pela minha felicidade. Te amo, mana.

À minha vizinha, Josefa, pelo amor, carinho e orações.

Ao professor e orientador Dr. José Torres Filho, pela confiança e ensinamentos importantes durante esse período de graduação, pela compreensão, conselhos e por me tranquilizar de que tudo daria certo, por estar a qualquer hora disposto a ajudar e tirar dúvidas, e o melhor orientador que poderia ser. Não é fácil explicar nestas poucas palavras a imensa gratidão que sinto;

À professora, Dra. Ioná Santos Araújo, pela confiança e ensinamentos importantes no desenvolvimento deste trabalho, pela ajuda prestada e por disponibilizar o laboratório e o uso de reagentes e pelo auxílio no decorrer das análises da parte molecular, por estar disponível a qualquer hora, sempre pronta a me ajudar, pela amizade, conselhos e atenção dispensada. Você é inspiração;

À Dra. Eveline Nogueira Lima pelas sugestões, ensinamentos e aconselhamentos;

Às minhas amigas Amanda e Jamile, por todas as boas conversas, pelo carinho, amizade, pelas companhias na cantina, nos almoços, por serem tão compressivas, queridas e sempre estarem dispostos a me ajudar.

À minha estimada amiga, Sabrina, tenho certeza que nossa irmandade é presente de Deus. Grata por sua companhia diária, pelas lutas nos estudos para as provas, nas apresentações, nos trabalhos em campo, e por participar da minha vida como um todo, pelos conselhos, pelo carinho, por todos os momentos vividos no decorrer desse curso.

Aos colegas de laboratório Abner, Atarisses, Jorge e Talison que muito me auxiliaram nos processos de extração e obtenção dos resultados da parte molecular.

Ao professor Ketson Bruno por ter creditado boas expectativas a minha pessoa e me oportunizou o primeiro trabalho apresentado em congresso nos anos iniciais da graduação; ao professor Charles Blake pela oportunidade de trabalhar no seu projeto piloto; à professora Eulene Francisco por tanta contribuição acadêmica, ensinamentos e conselhos para a vida, por

todo carinho e amizade; à professora Lidianne Kelly por sua amizade, empatia e apoio desde o momento em que nos conhecemos, você é incrível; ao professor Paulo Linhares com quem tive a oportunidade de trabalhar e exercer as atividades de campo com afinco. Agradeço a professora Lindomar por ter fornecido os acessos de feijão-caupi para o desenvolvimento deste trabalho e por suas contribuições. Obrigada à todos! Vocês contribuíram muito para minha evolução profissional e pessoal.

Aos colegas e amigos da turma de Agronomia 2015.1, obrigada por fazerem parte da minha história.

À Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), pela oferta do curso e oportunidade de continuar o processo de formação, ao Departamento de Ciências Agrônômicas e Florestais por ter sido minha casa durante esse tempo e por ter dado todo suporte necessário. Em especial, ao corpo docente, pelos conhecimentos transmitidos e pela amizade construída ao longo da graduação.

À todos que, com boa intenção, colaboraram para a realização e finalização deste trabalho.

Sabemos que Deus age em todas as coisas para
o bem daqueles que o amam, dos que foram
chamados de acordo com o seu propósito.

Romanos 8:28

RESUMO

O presente trabalho objetivou-se caracterizar de forma morfológica e molecular 26 genótipos de feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.), sendo vinte e dois acessos coletados em municípios do estado do Rio Grande do Norte e quatro variedades desenvolvidas pela EMBRAPA. O experimento foi conduzido na Horta Didática e no Laboratório de Biotecnologia Vegetal, do Departamento de Ciências Agronômicas e Florestais (DCAF), na Universidade Federal Rural do Semi-árido (UFERSA). A caracterização morfológica foi satisfatória para identificar acessos de interesse agrônomo, dos quais, os acessos AC11, AC25 e AC39 apresentaram hábito de crescimento determinado e porte ereto, caráter fundamental para agricultura tecnificada. Os resultados obtidos a partir da aplicação da metodologia de RAPD (Random Amplified Polymorphism DNA) foram usados na discriminação molecular. Sete primers (decâmeros) foram usados na análise, gerando em média 8,7 bandas e 6,3 bandas polimórficas por primer. A análise da matriz de distância genética indicou maior similaridade entre os acessos AC13 e AC17 com 86% de similaridade, e alto nível de variabilidade entre os acessos AC32 e AC39, havendo similaridade de 16%. O dendrograma gerado pelo método UPGMA formou oito grupos principais, permitindo identificar a diversidade genética entre os genótipos estudados.

Palavras-chave: Descritores morfológicos, Marcadores RAPD, *Vigna unguiculata* (L.) Walp, Caupi, Diversidade genética.

ABSTRACT

The present study aimed to characterize, in a morphological and molecular way, 26 genotypes of cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.), With twenty-two accessions collected in municipalities in the state of Rio Grande do Norte and four varieties developed by EMBRAPA . The experiment was conducted in the Didactic Garden and in the Laboratory of Plant Biotechnology, of the Department of Agronomic and Forestry Sciences (DCAF), at the Federal Rural University of the Semi-arid (UFERSA). The morphological characterization was satisfactory to identify accessions of agronomic interest, of which, the accessions AC11, AC25 and AC39 showed a habit of determined growth and erect posture, a fundamental character for technified agriculture. The results obtained from the application of the RAPD (Random Amplified Polymorphism DNA) methodology were used in molecular discrimination. Seven primers (decamers) were used in the analysis, generating an average of 8.7 bands and 6.3 polymorphic bands per primer. The analysis of the genetic distance matrix indicated greater similarity between the AC13 and AC17 accessions with 86% similarity, and a high level of variability between the AC32 and AC39 accessions, with a similarity of 16%. The dendrogram generated by the UPGMA method formed eight main groups, allowing to identify the genetic diversity among the studied genotypes.

Keywords: Morphological descriptors, RAPD markers, *Vigna unguiculata* (L.) Walp, Caupi, Genetic diversity.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 – Representação geográfica do Mapa do Rio Grande do Norte com destaque para os municípios onde foram coletados os genótipos estudados. 24
- Figura 2 – Eletroforese em gel de agarose (1,2%) mostrando produtos de PCR dos acessos de feijão-caupi amplificado com primer (série OPA) RAPD. A codificação ‘M’ na primeira canaleta do gel representa o marcador de peso molecular de 100pb. Cada canaleta representa um genótipo dos 26 estudados. 33
- Figura 3 – Dendrograma obtido pelo método UPGMA utilizando os coeficientes de Jaccard derivado da análise com os marcadores RAPD dos 21 acessos de feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp). 36

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 – Acessos de feijão-caupi coletados no Rio Grande do Norte e variedades comerciais. 23
- Tabela 2 – Identificação (ID), Sequência e Temperatura (°C) de Anelamento (Ta) dos Marcadores Utilizados Neste Estudo. 28
- Tabela 3 – Descritores morfológicos de planta e folha para os 22 acessos e 4 cultivares de feijão-caupi. 28
- Tabela 4 – Descritores morfológicos de inflorescência, vagem e semente para os 22 acessos e 4 cultivares de feijão-caupi. Mossoró, 2019. 29
- Tabela 5 – Número Fragmentos Amplificados (N°F_a), Número de Fragmentos Polimórficos (N°F_p), Porcentagem de Polimorfismo (%P), *Polymorphism Information Content* (PIC), dos Marcadores Utilizados Neste Estudo. 33
- Tabela 6 – Matriz de similaridade genética entre 26 genótipos de feijão-caupi, calculadas com base no complemento do coeficiente de Jaccard, utilizando 7 marcadores RAPD. 35

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
2 FEIJÃO-CAUPI (<i>Vigna unguiculata</i>).....	12
2.1 Origem do feijão-caupi.....	12
2.2 Caracterização botânica.....	12
2.3 A cultura do feijão-caupi e importância socioeconômica	14
2.4 Potencial genético do feijão-caupi	16
2.5 Melhoramento do feijão-caupi	17
2.6 Caracterização genética.....	18
2.6.1 Caracterização morfológica.....	19
2.6.2 Marcadores moleculares.....	21
3 MATERIAIS E MÉTODOS	23
3.1 Caracterização morfológica.....	25
3.2 Caracterização molecular	26
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	28
4.1 Dados Morfológicos.....	28
4.2 Dados Moleculares.....	32
4.2.1 Análise com marcadores RAPD	32
5 CONCLUSÃO	38
REFERÊNCIAS	39

1 INTRODUÇÃO

A espécie *Vigna unguiculata* (L.) Walp tem um importante papel na nutrição humana, na segurança alimentar e serve como fonte de renda para os agricultores (BOUKAR et al., 2016). Além do Brasil, é consumido em diversos lugares da África e União Europeia (SOBRINHO, 2017; DE RON et al., 2018). É uma leguminosa granífera, dotada de alto valor proteico e de baixo custo (CONAB, 2020). No Brasil é conhecida por diferentes nomes como feijão-de-corda, fradinho e macassar. E o nome vulgar mais utilizado no meio técnico é o caupi, derivado da palavra inglesa “Cowpea” (FREIRE FILHO et al., 2011).

A África é apontada como o centro de origem da espécie do feijão-caupi (MENDONÇA et al., 2015). E, segundo Rawal (1975), a evolução da espécie ocorreu, principalmente, em ambientes semiáridos. A entrada do feijão-caupi no Brasil ocorreu por volta do século XVI, a partir do estado da Bahia (NASCIMENTO, 2011), em seguida disseminados para outras áreas do Nordeste e depois levados para as demais regiões do país (FREIRE FILHO et al., 2011).

O Brasil se destaca entre os maiores produtores mundiais da cultura (FERREIRA et al., 2018), considerando o relatório da Conab (2019) referente à safra 2018/2019, a produção brasileira de feijão-caupi foi de 637.700 toneladas. As regiões Norte e Nordeste são responsáveis pela produção de quase 70% da cultura na safra 2016/17 (CONAB, 2017), apesar de apresentar produtividade de grãos muito abaixo do seu potencial produtivo, devido o uso, em sua maioria, de cultivares tradicionais. Enquanto isso, o estado do Mato Grosso é responsável por 30% do feijão-caupi colhido no Brasil, com produção de 237 mil toneladas no ciclo 2017/18 (CONAB, 2018), e o destaque para a expansão da cultura no Centro-Oeste se deve ao cultivo em regime de alta tecnificação (ROCHA et al., 2016).

As variedades de feijão-caupi são símbolos tradicionais que apresentam ao longo do tempo uma estreita relação entre o agricultor e o meio ambiente, tendo sido selecionadas para dar uma melhor resposta às necessidades e às preferências do homem (PAULINO & GOMES, 2015). Tendo em vista o alto potencial genético que o feijão-caupi possui, é primordial que se realizem a caracterização, descrição e a catalogação destes materiais, para se obter amplo conhecimento sobre a variabilidade existente. E dessa forma, identificar acessos que possuem características desejáveis para o desenvolvimento de novas cultivares e que atendam às exigências dos produtores, comerciantes e consumidores (SANTOS, 2019).

A caracterização de variedades de feijão-caupi para o estudo da diversidade pode ser realizada a partir da caracterização morfológica, ou seja, fenotipicamente através de descritores morfológicos (KARASAWA et al., 2005) e genotipicamente a nível de DNA, por meio do uso de marcadores moleculares (PEREIRA et al., 2009).

A caracterização morfológica, segundo Souza (2016), consiste idealmente na mensuração de caracteres na planta e sementes e observações visuais a olho nu. Bettencourt (2007) avalia a caracterização morfológica de forma qualitativa, através de descritores como hábito de crescimento, cor de flor e semente que são características padrões da espécie. Porém, para Souza (2016) essas informações podem apresentar algumas limitações, por sofrerem interferências ambientais. Dessa forma, a caracterização deve ser complementada com o auxílio de marcadores moleculares, capazes de detectar o polimorfismo genético ao nível de DNA, possibilitando a discriminação genotípica de forma hábil, sem a interferência do ambiente (FERREIRA & GRATTAPAGLIA, 1998).

Os marcadores moleculares são ferramentas importantes para acesso de informações do DNA vegetal e tem sido amplamente utilizado em pesquisas de diversidade genética, identificação de variedades, análises filogenéticas, mapeamento de genes e para classificar culturas (SANTANA et al., 2016; ALGHAMDI et al., 2018).

Dentre estes marcadores, destaca-se o DNA polimórfico amplificado ao acaso (RAPD), baseado na reação em cadeia da polimerase (PCR), bastante acessível não requer nenhuma informação prévia sobre sequências de nucleotídeos do genoma da espécie, além do custo relativamente baixo (BINNECK et al, 2002). A organização e amostragem dos dados através da geração de polimorfismo pela técnica de RAPD podem ser medidas por similaridade e, ou dissimilaridade, e ainda por análise de agrupamento.

Tendo como base as variedades locais antigas, que ainda preservam elevada variabilidade genética, é possível estabelecer uma estratégia de melhoramento do feijão-caupi com o objetivo de obter variedades mais produtivas, com tolerância à seca, altas temperaturas, pragas e doenças (PAULINO & GOMES, 2015).

Sendo assim, este trabalho tem por objetivo realizar a caracterização morfológica a partir de descritores qualitativos e a caracterização molecular através do uso de RAPD, bem como, apresentar o agrupamento destes em função da similaridade genética de 26 genótipos de feijão-caupi coletados em municípios do estado do Rio Grande do Norte.

2 FEIJÃO-CAUPI (*Vigna unguiculata*)

2.1 Origem do feijão-caupi

O caupi tem origem no continente africano, é a teoria mais aceita atualmente, contudo existem divergências entre os pesquisadores quanto ao provável centro de origem da espécie (MENDONÇA et al., 2015). Existem duas vertentes de possíveis locais de origem, para Ng & Maréchal (1985). A primeira seria o oeste da África, precisamente na Nigéria. Para Freire Filho (1988), em decorrência da maior diversidade genética da cultura e da presença das formas selvagens desta espécie, que são encontradas somente na África do Sul, este é o centro mais provável de domesticação. Em consenso com os demais estudos, Huynh et al. (2013) identificaram dois centros de diversidade, ambos no continente africano, o primeiro na África Ocidental e o segundo composto de raças distribuídas na África Oriental.

A entrada do feijão-caupi no Brasil ocorreu por volta do século XVI, a partir do estado da Bahia (NASCIMENTO, 2011). Em uma de suas obras, Gandavo (2008), relata que em 1587 uma grande variedade de feijões e favas eram cultivadas na Bahia, confirmando a proposição de introdução pelo estado nordestino. As evidências de que o feijão-caupi era uma das espécies introduzidas são muito fortes, pois o comércio era intenso entre a Bahia, capital administrativa, e o Oeste da África (FREIRE FILHO, 1988). Leite (2012) acredita que os primeiros cultivos tenham iniciado na Bahia, em seguida disseminados para outras áreas do Nordeste e depois levados para as demais regiões do país.

É uma importante leguminosa granífera, adaptada e cultivada em regiões secas dos trópicos e subtropicais do planeta (BOUKAR et al., 2016). Com isso, o caupi é uma espécie que apresenta rusticidade e tolerância a uma grande diversidade de condições, tanto de solo como de clima. E vem sendo cultivada em escala mundial abrangendo área aproximada de 7 milhões de hectares distribuídos na África, Ásia e Américas (EHLERS & HALL, 1997).

2.2 Caracterização botânica

O feijão-caupi é uma planta que foi primeiramente descrita por Linnaeus como *Dolichos unguiculatus* L., sendo posteriormente classificada por Walpers como *Vigna unguiculata* (L.) Walp (PASQUET, 1998).

O caupi é descrito botanicamente como uma planta Eudicotyledonea pertencente ao reino Plantae, divisão Magnoliophyta, classe Magnoliopsida, ordem Fabales, família Fabaceae, subfamília Faboideae, tribo Phaseolae, subtribo Phaseolineae, gênero *Vigna*, subgênero *Vigna*, seção catyang, espécie *Vigna unguiculata* (L.) Walp. e subespécie

unguiculata, subdividida em quatro cultigrupos: Unguiculata, Sesquipedalis, Biflora e Textilis (ALLANTOSPERMUM, 2016).

Contudo, no Brasil, um dos mais cultivados é o Unguiculata cujos grãos são dotados de alto valor proteico, calórico e sabor incomparável, cultivada principalmente, para a produção de grãos secos e verdes, sendo consumido in natura, na forma de conserva ou desidratado, rico em aminoácidos, tiamina e niacina, além de fibras dietéticas, por isso é uma boa opção para a melhoria da qualidade de vida, especialmente da população carente no meio rural e urbano (EMBRAPA 2011).

A espécie *Vigna unguiculata* é conhecida por diferentes nomes no Brasil, seu nome varia de acordo com a região: feijão-de-corda, feijão macassar e feijão-de-moite (Região Nordeste); feijão-de-praia (Região Norte) e feijão miúdo (Região Sul). E o nome vulgar mais utilizado no meio técnico é o caupi, derivado da palavra inglesa “Cowpea” (FREIRE FILHO et al., 2011).

O feijão-caupi foi submetido a uma grande diversidade de ambientes e de sistema de produção, o que resultou numa forte pressão de seleção. E, segundo RAWAL (1975), a evolução do feijão-caupi ocorreu, principalmente, em ambientes semiáridos, com as seguintes alterações durante a domesticação: mudança de perene para anual e de alógama para autógama.

A morfologia floral do feijão-caupi indica que a espécie é bastante evoluída, pois, embora sendo amplamente autopolinizada, mantém a capacidade para a polinização cruzada (ROCHA, 2007).

Morfologicamente, apresenta variações em características como, cor da flor, forma do folíolo central, porte da planta, posições das vagens, entre outras. Tais características são associadas ao genótipo de cada planta em conjunto com a influência do ambiente, tornando-as intrínsecas a cada indivíduo (SOBRAL, 2009).

A cultura do caupi apresenta um desenvolvimento vegetativo que dura em média de 23 a 43 dias e a partir de então surgem as vagens (NEVES et al., 2009). Segundo Freire Filho et al. (2005), outra característica importante do feijão relaciona-se ao tempo de seu ciclo, uma vez que o mesmo é usado para o planejamento da lavoura.

As cultivares podem ser agrupadas em cinco classes: Extra precoce, maturidade < 60 dias após a semeadura; Ciclo precoce, entre 61 e 70 dias; Ciclo médio-precoce, entre 71 e 80 dias; Ciclo médio-tardio, entre 81 e 90 dias e Ciclo tardio, a partir de 91 dias (FREIRE FILHO et al., 2005).

Vale, Bertini & Borem (2017, 267p.) afirmam que o feijão-caupi multiplica-se, predominantemente, por autofecundação. A espécie apresenta baixa taxa de cruzamento natural, pode variar com o ambiente e genótipo. Os órgãos de reprodução são protegidos pelas pétalas e ocorre protoginia (maturação do gineceu antes do androceu) e cleistogamia (polinização antes da abertura da flor), favorecendo a autogamia.

Com a ocorrência de mutações, seleção natural, cruzamentos naturais e a seleção por parte dos produtores, selecionando os tipos de plantas e de grãos com base em suas necessidades, preferências visuais e culinárias, esse material detém uma grande variabilidade genética, tanto inter como intra populacional (FREIRE FILHO et al., 2011).

2.3 A cultura do feijão-caupi e importância socioeconômica

A cultura do feijão-caupi tem um importante papel na nutrição humana, na segurança alimentar e serve como fonte de renda para os agricultores (BOUKAR et al., 2016).

As plantas são versáteis, apresenta alta precocidade, fixação de nitrogênio, resistência à baixa disponibilidade hídrica e a solos com baixa fertilidade, que aliados a outros fatores climáticos como calor tropical e a baixa umidade relativa do ar, revela-se uma alternativa promissora para a produção de proteína a um custo baixo e com um ciclo rápido (ARAÚJO, 2019).

Além de ser utilizado como forragem verde, feno, silagem, farinha para alimentação animal e como adubação verde. O seu mercado apresenta preços atrativos, com boas perspectivas para expansão, tornando-a uma cultura viável para agricultores familiares e empreendedores rurais (ROCHA et al, 2009).

A leguminosa é produzida na África, América do Sul e Ásia (SEAB, 2018), e no Brasil, historicamente, a produção de feijão-caupi concentra-se nas regiões Nordeste (1,2 milhão de hectares) e Norte (55,8 mil hectares) do país. No entanto, apresenta expansão nas demais regiões brasileiras, principalmente na região Centro-Oeste, em razão do desenvolvimento de cultivares com características que favorecem o cultivo mecanizado (ALMEIDA, 2014).

Segundo a Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura - FAO (2018), a produção do feijão-caupi ao redor do mundo é estimada em 7,2 milhões de toneladas anualmente em uma área cultivada de 12,5 milhões de hectares. O continente africano é responsável por cerca de 96,4% da produção do planeta, tendo a Nigéria (2,6 milhões de toneladas) como o maior produtor mundial, seguida de Níger (2,3 milhões de toneladas) e Burkina Faso (630.965 toneladas).

Vale ressaltar, que o Brasil ocupa destaque entre os maiores produtores mundiais da cultura (DUROJAYE et al., 2019; FERREIRA et al., 2018), visto que nos dados da FAO a produção brasileira não é contabilizada, pois, conforme aponta Damasceno & Silva (2009), ocorre em função da não realização da separação das estimativas de feijão-comum (*Phaseolus vulgaris*) e feijão-caupi (*Vigna unguiculata*) pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE).

Considerando os dados do relatório da Conab (2019) referente à safra 2018/2019, a produção brasileira de feijão-caupi foi de 637.700 toneladas e uma área ocupada de 1.276.200 milhões de hectares. A produção na safra 2019/20 está projetada em 687,4 mil t de feijão caupi (CONAB, 2020).

Conforme a CONAB (2017), os estados do Norte e Nordeste demonstram expressividade no quadro de produção nacional do caupi, em que são responsáveis pela produção de quase 70% da cultura na safra 2016/17. O Mato Grosso é responsável por 30% do feijão-caupi colhido no Brasil e encabeça o ranking dos maiores produtores do país, com 237 mil toneladas produzidas no ciclo 2017/18. Na sequência aparece o Ceará com 115 mil toneladas e a Bahia com 100 mil toneladas (CONAB, 2018).

Na Região Nordeste, o feijão-caupi tem grande importância, principalmente por apresentar alta demanda consumidora. O grão faz parte do hábito alimentar de seus habitantes e isso impacta na expressiva destinação de área que a região apresenta em comparação as demais regiões brasileiras (CONAB, 2020).

Entretanto, para Freire Filho (2011), a participação do feijão-caupi na região Norte e Nordeste tem uma produção relativamente modesta, tendo em vista o total da área cultivada e o uso de cultivares tradicionais, apresenta baixa produtividade quando comparada a região Centro-Oeste, onde o feijão-caupi começou a ser cultivado em larga escala em 2006, e já apresenta produtividade superior à média nacional, em razão do uso de cultivares com características melhoradas e que favorecem o cultivo mecanizado.

No Rio Grande do Norte, dentre os diversos tipos de cultura, o feijão-caupi ocupa 92% da área plantada, um fato que destaca a rusticidade da cultura, já que 91% da área territorial do estado situa-se dentro do polígono das secas, onde o clima predominante é o semiárido (BRISTOT et al., 2016).

Os principais produtores de feijão-caupi do Norte e Nordeste são agricultores familiares que ainda praticam técnicas tradicionais de cultivo, enquanto na região Centro-Oeste, a cultura é gerida por grandes produtores que trabalham em regime de alta tecnificação (FREIRE FILHO, et al., 2011).

Com a ampliação das áreas produtivas, o surgimento de um novo perfil de produtor e de mercado consumidor ocasionou o aparecimento de novas demandas pelo feijão-caupi, o que ampliou os objetivos do melhoramento genético dessa cultura (EMBRAPA, 2011).

2.4 Potencial genético do feijão-caupi

Segundo Cruz, Ferreira & Pessoni (2011), os recursos genéticos são determinados por acessos, que representam a variabilidade genética organizada em um conjunto de materiais diferentes entre si, denominados germoplasma. Cada germoplasma deve estabelecer uma única cópia do material genético e ser representativo do organismo de interesse atual ou potencial. Sendo assim, o germoplasma é o elemento dos recursos genéticos que manipula a variabilidade genética inter e intraespecífica, para conservá-la e utilizá-la na pesquisa e programas de melhoramento genético.

Freire Filho et al. (2011) afirma que as primeiras introduções de germoplasma de feijão-caupi no Brasil foram por volta do século XVI, denominadas atualmente como crioulas, locais ou tradicionais, ainda que exóticas, constituindo o germoplasma básico do Brasil, de modo que as primeiras cultivares melhoradas geneticamente surgiram a partir delas.

Sousa et al. (2015), relatam em seu trabalho a ampla variabilidade genética do feijão-caupi, conferida por sua versatilidade e uma vasta utilização nos diferentes sistemas produtivos. Tremea et al. (2007) complementa ao apontar, que grande parte da variabilidade desta cultura, encontra-se especialmente cultivada por pequenos produtores, na qual selecionaram ao longo dos anos, e, estas variedades se tornaram muito importantes do ponto de vista de conservação dos recursos genéticos disponíveis.

É importante citar que o cultivo sucessivo de um mesmo germoplasma, amplia a chance de ocorrência de mutações, e que ocorre a preservação de organismos que apresentem vantagens adaptativas sobre os demais. Com base nessa característica, os agricultores, principalmente os mais experientes com a cultura cultivada, como a do feijão-caupi, selecionam as variedades que, possivelmente, podem lhes proporcionar vantagens produtivas. É muito comum que as variedades crioulas, ou locais, possuam uma junção de vários genótipos, o que é bastante relevante no âmbito do melhoramento genético, uma vez que os organismos podem conter fontes de tolerância a diversos estresses bióticos e abióticos, como o estresse hídrico, sendo dotados de características agronômicas desejáveis (EMBRAPA ARROZ E FEIJÃO, 2010).

Contudo, as variedades tradicionais têm sido continuamente substituídas por variedades melhoradas no contexto da agricultura atual. Isso leva a perda de variabilidade local e torna

necessária a conservação de toda a variabilidade que existe em uma espécie, e das espécies que pertencem ao mesmo conjunto gênico (ZIMMERMANN & TEIXEIRA, 1996).

Diante disso as sementes crioulas de feijão podem ser uma alternativa, pois apresentam potencial genético inter e intrapopulacional, o que explica os diferentes fenótipos encontrados tanto nas características da semente como da planta (CRUZ & REGAZZI, 2001).

Os recursos genéticos de feijão-caupi são essenciais para o desenvolvimento, manutenção e a sustentabilidade desta cultura. Devido o aumento da valorização da espécie, estudos relacionados às caracterizações da cultura estão aumentando ao longo dos anos (CARVALHO et al., 2017).

2.5 Melhoramento do feijão-caupi

O conhecimento sobre a variabilidade genética tem incentivado o surgimento de programas de melhoramento vegetal, uma vez que os progressos dos mesmos dependem da maior diversidade genética encontrada em uma população (CRUZ & REGAZZI, 2001).

O caupi é predominantemente uma planta autógama, ou seja, durante o seu processo de fecundação, o que mais ocorre é a autofecundação, lhe conferindo assim uma linhagem pura, com genótipos que possuem todos os seus locos em homozigose, apresentando alelos iguais em todos os genes (RAMALHO & ABREU, 2015). Os mesmos autores completam que, com apenas 3% de fecundação cruzada, a constituição da cultivar permanece praticamente inalterada, desde que não haja misturas mecânicas ou mutações.

Dessa forma, cada variedade crioula, pode ter características únicas e que devem ser analisadas, descritas e identificadas, a fim de diferenciar acessos dentro de espécies, classes ou categorias.

Segundo Freire Filho (2011), os trabalhos de pesquisas voltados para a cultura do feijão-caupi no Brasil, começaram por volta de 1903, com a publicação "Os feijões de macassar", de Gustavo R. P. Dutra. Com o passar dos anos ocorreram etapas relacionadas ao melhoramento da planta de feijão-caupi, sendo a primeira fase ocorrida entre os anos de 1925 a 1963, mas sem recomendações de cultivares. Na segunda fase de 1963 a 1973, iniciou-se a integração das pesquisas com feijão-caupi entre alguns institutos de pesquisa e as universidades, onde foram realizadas as primeiras coletas, caracterização e avaliação de germoplasma e liberadas as primeiras cultivares no Brasil, pela Universidade Federal do Ceará. Na terceira fase compreendida entre 1973 a 1991, a Embrapa participou do sistema de pesquisa, montando uma equipe somente para trabalhos com feijão-caupi. E a partir do ano de 1977 utilizou-se o método de melhoramento genealógico (Pedigree) e, no período de 1984 a

1991, o método de descendência de uma única vagem (SPD) (FREIRE FILHO et al., 2011). Na quarta fase de 1991 até o presente momento, ocorreu à ampliação da rede de melhoramento, incluindo todos os estados da região Norte, Nordeste, Mato Grosso e Mato Grosso do Sul da região Centro-Oeste e os estados de Minas Geras e São Paulo na região Sudeste. Nesta fase, grandes avanços foram obtidos para a qualidade do grão, resistência a vírus, arquitetura da planta e precocidade, que viabilizaram o cultivo em grandes áreas dos cerrados de forma mecanizada (FREIRE FILHO et al., 2011).

Quanto aos métodos de melhoramento genético para o feijão-caupi, os mais utilizados são: introdução de germoplasma, seleção massal em cultivares locais, seleção de planta individual com teste de progênie em cultivares locais, método genealógico, método da descendência de uma única semente (single seed descent), método da descendência de uma única vagem (single pod descent) e método dos retrocruzamentos (FREIRE FILHO et al., 2011).

O melhoramento genético tem como objetivo principal o fortalecimento de todas as etapas relacionadas à cultura do feijão-caupi e ao mesmo tempo direcionar o desenvolvimento de novas cultivares com aspectos morfológicos mais modernos, que atendem a agricultura familiar, bem como atendem a agricultura empresarial. Essas plantas devem apresentar um ciclo de maturação mais precoce; baixo acamamento; resistência às principais pragas e doenças; estresse hídrico e salinidade; qualidade comercial do grão como a cor, forma e aspecto do tegumento e maior adequação para agroindústria; alta resposta à fixação biológica do nitrogênio; e alta produtividade, adaptação e estabilidade aos vários biomas brasileiros, possibilitando assim a elaboração de genótipos importantes comercialmente.

Para enfrentar os desafios da cultura do feijão-caupi, os programas de melhoramento genético em andamento no país têm lançado mão da integração das metodologias de melhoramento clássico com as modernas técnicas biotecnológicas (LEITE & ANTHONISEN, 2009). Uma das etapas importantes nesse processo consiste na caracterização de genótipos através da descrição e registro de suas características morfológicas, citogenéticas, bioquímicas e, ou moleculares (VALOIS et al., 1996). Dessa forma, é possível identificar acessos que possuem características desejáveis para o desenvolvimento de novas cultivares.

2.6 Caracterização genética

Os materiais genéticos disponíveis podem ser caracterizados fenotipicamente através de descritores morfológicos (KARASAWA et al., 2005) e genotipicamente por meio do uso de marcadores moleculares (PEREIRA et al., 2009). Assim, a associação destes permite

diferenciar genótipos morfológicamente diferentes, mas geneticamente análogos e o contrário também é observado. A caracterização realizada com base em descritores morfológicos possui relação direta com a adoção de estratégias de cruzamentos via formação de agrupamentos. Já a caracterização molecular é essencial quando se pretende explorar uma caracterização mais detalhada do germoplasma (BHATTARAI et al., 2016).

De acordo com a Lei de Proteção de Cultivares de nº 9.456, sancionada em 25 de abril de 1997, descritor é “a característica morfológica, fisiológica, bioquímica ou molecular que seja herdada geneticamente, utilizada na identificação do cultivar”.

2.6.1 Caracterização morfológica

A caracterização, segundo Valls (1988), consiste idealmente na anotação de caracteres botânicos de alta herdabilidade, facilmente visíveis ou mensuráveis e que se expressam em todos os ambientes. Para Teixeira (2010), a caracterização do germoplasma é uma atividade que agrega valor à coleção, pois envolve estudos que visam conhecer a diversidade genética da cultura e fornece um conjunto básico de informações que pode ser usado como ponto de partida para outras avaliações.

De acordo com Sobral (2009), é através da caracterização do germoplasma que se torna possível agrupar a coleção em subgrupos conforme os objetivos de utilização do melhoramento.

A utilização eficiente da variabilidade genética só é possível se for corretamente avaliada e quantificada (OLIVEIRA et al., 2011). E, para promover seu uso, os acessos conservados em Bancos de Germoplasma devem ser bem caracterizados, sem lacunas quanto à efetiva documentação e informação sobre sua origem, características e potencial de uso (VILELA-MORALES & VALOIS, 2000). Um descritor confiável deverá permitir a distinção entre acessos diferentes de uma mesma cultura, deve ser praticável, útil e deve evitar redundância (CHAPMAN, 1989).

Na caracterização morfológica são realizadas observações visuais a olho nu e mensurações de caracteres na planta e sementes (SOUZA, 2016). Por meio dessa morfologia, pode-se inferir, por exemplo, quais variáveis são importantes para estudos envolvendo diferentes materiais de uma mesma espécie, e, assim, indicar os mais promissores para trabalhos de melhoramento da cultura (COELHO et al., 2010).

Segundo Lima (2016), no processo de caracterização são avaliados descritores qualitativos e quantitativos, e o melhorista deve utilizar os mais interessantes, levando em conta aquilo que mais interessa a determinada região.

Os caracteres qualitativos são características morfológicas da planta, governadas por um ou poucos genes. São de fácil aferição, possuem menor custo e são menos influenciados pelo ambiente do que os caracteres quantitativos (CABRAL, 2011).

E os caracteres quantitativos fornecem informações sobre o desempenho agrônômico de uma espécie ou de uma subamostra, como por exemplo, produtividade, época de floração, tamanho do fruto, entre outras. São os mais influenciados pelo ambiente, mas são muito importantes na avaliação de acessos, pois refletem o real potencial produtivo e a possibilidade de utilização de forma direta no melhoramento genético. Geralmente são poligênicos, governados por vários genes (VIEIRA et al., 2008).

Destaca-se ainda que, os caracteres qualitativos têm maior confiabilidade e são considerados os mais apropriados, por sofrerem menos influência que os quantitativos para descrever uma variedade de, pois são na sua maioria geneticamente controlados e independentes do ambiente de cultivo (CARVALHO et al., 2017).

O método de descritor morfológico foi primordialmente proposto em 1923 e continua sendo amplamente usado até hoje, apesar de suas limitações. A principal limitação enfrentada no uso deste tipo de marcador diz respeito à dificuldade de caracterização quando as bases genéticas dos cultivares são muito próximas (SMITH & SMITH, 1922) limitações adicionais relacionadas ao número reduzido de marcadores fenotípicos disponíveis e na ausência de ligações destes caracteres de interesse econômico (PECCHIONI et al., 1996)

Existem várias características para os descritores, mas no Brasil, a caracterização para o feijão é realizada levando em conta os descritores morfológicos e agrônômicos. E dentre as características analisadas estão: número de dias até o florescimento, cor da flor, hábito de crescimento, porte da planta, cor da vagem, ciclo, altura de inserção da primeira vagem, número de vagens por planta, número de grãos por vagem (SILVA, 2005).

Carvalho et al. (2016), estudando as bases para o melhoramento de feijão-frade utilizou como um dos parâmetros para caracterização e análise da diversidade genética os descritores qualitativos para hábito de crescimento, forma do folíolo terminal, cor da flor, da semente e do hilo, e forma da semente.

A pesquisa conduzida por Caminha et al. (2015) para caracterizar cultivares de feijão-caupi apresentou divergência fenotípica em pelo menos um caráter para os descritores estudados, sendo estes os descritores qualitativos morfológicos: cor da flor, cor e forma das vagens e dos grãos, forma do folíolo central, posição das vagens, tamanho dos grãos e o porte da planta.

2.6.2 Marcadores moleculares

Com os avanços da biotecnologia, o advento dos marcadores moleculares possibilitou a discriminação genotípica de forma hábil, pois permite o estudo da variação genética em nível de DNA (FERREIRA & GRATTAPAGLIA, 1998).

Características de DNA que diferenciam dois ou mais indivíduos e são herdadas geneticamente são conhecidas como marcadores moleculares. Os principais marcadores de DNA podem ser classificados em dois grupos: marcadores baseados em hibridização com sondas específicas e aqueles com base na amplificação do DNA via reação de polimerização em cadeia (PCR – Polymerase Chain Reaction) (MILLACH, 1998a ; FERREIRA & GRATTAPAGLIA, 1995).

De acordo com Turchetto-Zolet et al., (2017), diferentes técnicas para a análise de marcadores de DNA foram desenvolvidas a partir do surgimento da PCR, permitindo a amplificação de uma grande quantidade de uma sequência específica de DNA sem necessidade de clonagem, começando com apenas algumas moléculas da sequência alvo. Uma vantagem dos métodos de marcadores baseados em PCR sobre os métodos de marcadores baseados em hibridização é que o último requer o isolamento de grandes quantidades de DNA. Entre os marcadores baseados em PCR, podemos citar, por exemplo: RAPD (Random Amplified Polymorphism DNA), ISSR (Inter-simple sequence repeats), SSR ou MICROSSATÉLITES (Simple Sequence Repeats), AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism).

Segundo Ramalho et al. (2012), esses marcadores distinguem-se ainda quanto a capacidade de gerar diferenças entre as formas dos fragmentos de DNA, o que em marcadores moleculares codominantes (Indivíduos heterozigotos são detectados), como os microsatélites, é identificado com base no tamanho das bandas, e em marcadores dominantes (não identifica heterozigotos), como os RAPD, pela ausência ou presença de bandas.

Os marcadores moleculares são ferramentas importantes para acesso de informações de DNA vegetal, têm sido amplamente utilizados em pesquisas de diversidade genética, identificação de variedades, análises filogenéticas, mapeamento de genes e para classificar diversas culturas (SANTANA et al., 2016; ALGHAMDI et al., 2018), fornecendo quantidade ilimitada de dados em qualquer estágio de desenvolvimento da planta, sendo importantes em estudos genéticos de populações vegetais (HOFFMAN & BARROSO, 2006).

2.6.2.1 RAPD

A técnica de RAPD, dentre as apresentadas, é a de menor custo, fácil de implementar, rapidez, demanda de quantidades mínimas de DNA para realização das análises, possibilidade de estudo de espécies com pouco ou nenhum polimorfismo em locos isoenzimáticos. Por utilizar primers de sequência arbitrária, os marcadores RAPD permitem a realização de análises genéticas sem a necessidade de conhecimento prévio sobre o DNA da espécie a ser estudada (LACERDA et al., 2002).

Marcadores RAPD foram os primeiros marcadores desenvolvidos baseados em PCR. Nesta técnica é utilizado um único primer de 10 nucleotídeos e com sequência arbitrária. Com isso, para que um fragmento de DNA seja amplificado, duas regiões complementares ao iniciador devem estar separadas por até 2000 bases em orientações opostas, amplificando fragmentos de DNA, distribuídos ao acaso no genoma. Assim, a correspondência entre os fragmentos amplificados de diferentes espécies pelos mesmos iniciadores RAPD é natural (RIESEBERG, 1996).

Os polimorfismos RAPD resultam da variação da sequência nos locais de anelamento do primer e/ou variação de comprimento na sequência alvo situada entre os locais de ligação do primer. O RAPD é uma técnica não radioativa que requer uma pequena quantidade de DNA (15-25 ng), sendo esta a maior vantagem em relação as demais técnicas, e pode ser realizada em poucas horas. Outra vantagem é o grande número de marcadores obtidos distribuídos ao longo do genoma (TURCHETTO-ZOLET et al., 2017).

Em função da grande quantidade de DNA produzido, o fragmento amplificado pode ser visualizado diretamente em um gel de eletroforese (FERREIRA & GRATTAPAGLIA, 1998).

Contudo, tem a desvantagem de ser de repetibilidade baixa e pouco consistente de um laboratório para o outro, o que dificulta a comparação de dados obtidos em diferentes locais. Assim, cuidados devem ser tomados na padronização da técnica no laboratório para a caracterização de cultivares. O nível de polimorfismo obtido com RAPDs varia grandemente com a espécie em questão, e tem sido utilizada com sucesso na caracterização de variedades de cevada (TINKER et al., 1993; PENNER et al., 1998), e arroz (MACKILL, 1995), entre outras.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em duas etapas, sendo uma desenvolvida em campo, na Horta Didática do Departamento de Ciências Agronômicas e Florestais (DCAF) e a outra no Laboratório de Biotecnologia Vegetal, ambos da Universidade Federal Rural do Semi-árido (UFERSA), localizada no município de Mossoró-RN.

Os tratamentos foram constituídos de 26 genótipos de feijão-caupi, sendo 22 acessos coletados em municípios do estado do Rio Grande do Norte e 4 variedades comerciais indicadas pela EMBRAPA (Tabela 1), todos os acessos foram cedidos pelo DCAF da UFERSA.

Tabela 1. Acessos de feijão-caupi coletados no Rio Grande do Norte e variedades comerciais.

Nº Identificação	Nome comum/Origem
AC 4	Lagoa de Pedras
AC 7	Pedro Velho
AC 10	Campo Grande
AC 11	Mossoró
AC 12	Umarizal
AC 13	Alexandria
AC 14	Passa e Fica
AC 17	Felipe Guerra
AC 19	Santana do Matos
AC 20	Jaçanã
AC 21	Serrinha
AC 22	Boa Saúde
AC 23	São José de Mipibu
AC 24	Lagoa Salgada
AC 25	Currais Novos
AC 26	Lagoa d'Anta
AC 28	Campo Redondo
AC 29	Tangará
AC 31	Roxão
AC 32	Pelezinho
34 BRS	BRS Xique-xique
35 BRS	BRS Guariba
36 BRS	BRS Marataoã
37 BRS	BRS Pujante
AC 38	Governador Dix-Sept Rosado
AC 39	Apodi

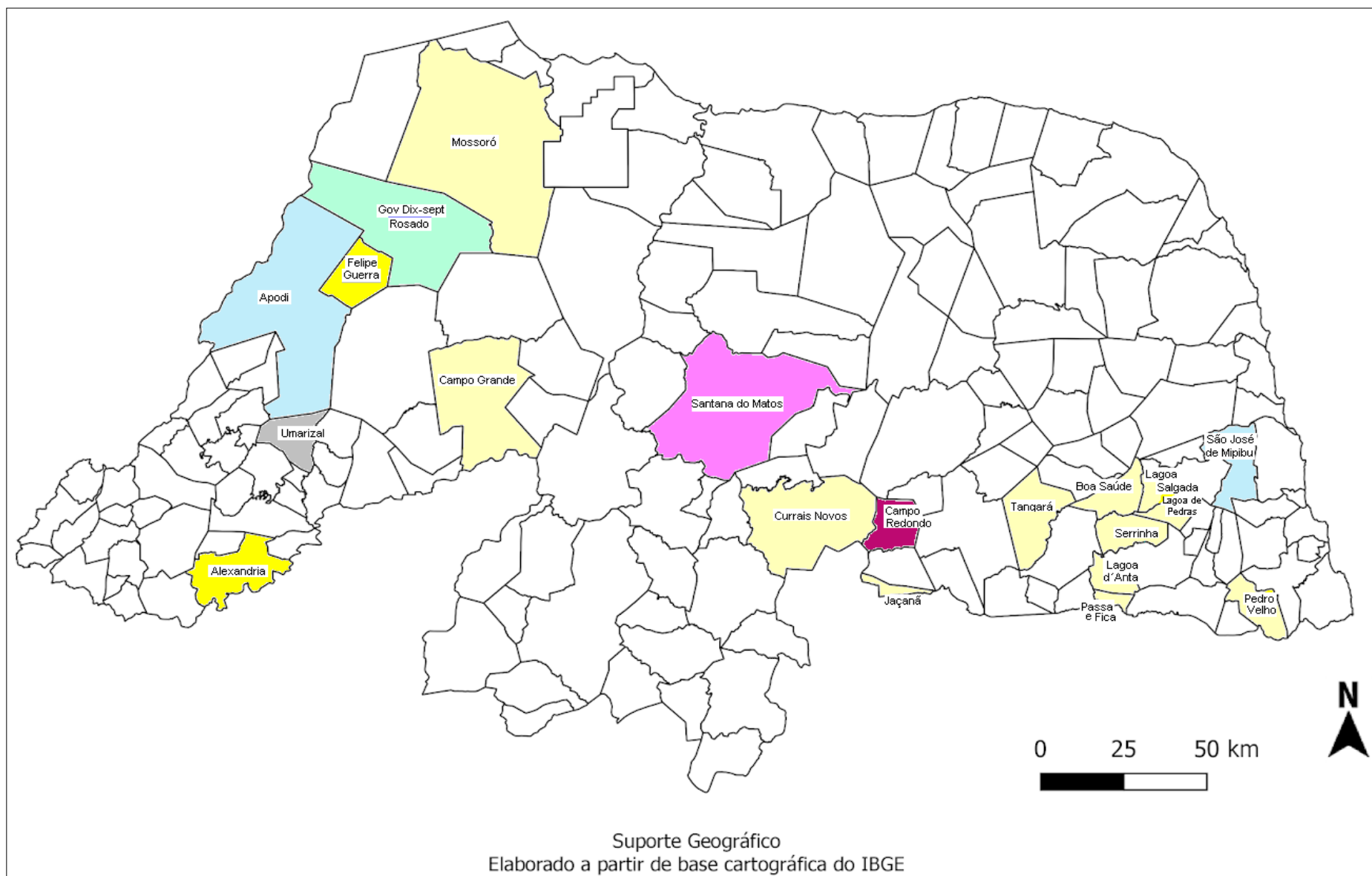


Figura 1. Representação geográfica do Mapa do Rio Grande do Norte com destaque para os municípios onde foram coletados os acessos estudados.

3.1 Caracterização morfológica

Para a instalação do experimento em campo, foi utilizado o delineamento experimental de blocos casualizados completos, com 26 tratamentos (vinte e dois acessos e quatro variedades comerciais), em quatro repetições (blocos). Cada parcela experimental com as dimensões de 2,0m x 5,0m, constituída de quatro fileiras de 5,0m de comprimento. O espaçamento entre fileiras de 0,50m e 0,30m entre covas. A área útil foi composta por duas fileiras centrais, uma fileira para coleta de grãos secos e outra para coleta grãos verdes.

A área experimental foi arada e gradeada e os acessos semeados em cova com 4 sementes/cova. O replantio e desbaste foram realizados entre os 15 e 20 dias após a semeadura em campo, realizando a compensação das falhas, através do plantio de novas sementes, e no momento do desbaste, foram deixadas apenas duas plantas por cova. O Experimento foi conduzido sob a condição irrigada de gotejamento. Houve uma infestação inicial de ácaros adequadamente combatida. Os tratos culturais foram os utilizados para a cultura, ocorrendo a realização regular de capinas para evitar a competição por água e nutrientes com plantas daninhas.

Durante a etapa em campo foram realizadas avaliações visuais, para caracteres morfológicos qualitativos e registrados com base nos descritores para feijão-caupi (Brasil, 2010), respeitando cada fase da cultura. Sendo eles:

- a) Descritores da planta para hábito de crescimento: Determinado e Indeterminado.
- b) Descritores para porte da planta: Ereto, Semiereto, Semiprostrado e Prostrado.
- c) Descritores da folha
 - I. Intensidade da cor verde: Clara, Média e Escura.
 - II. Forma do folíolo central: Hastiforme, Lanceolada, Lanceolada alargada, Rombóide.
 - III. Formato da folha: Sublanceolada, Lanceolada, Globosa.
- d) Descritores para cor da flor: Branca, Violeta.
- e) Descritores para vagem
 - I. Perfil: Arqueada, Recurvada e Reta.
 - II. Pigmentação da vagem imatura: Pigmentação no ápice e Manchas de pigmentação e Nenhuma pigmentação.
 - III. Pigmentação da vagem seca: Amarela, Avermelhada, Roxa e Marrom.
- f) Descritores para sementes

- I. Forma da semente: Comprimida, Ovalada, Arredondada, Elíptica, Reniforme, Rombóide, Quadrangular, Losangular.
- II. Cor primária da semente: Branca, Creme, Verde, Azulada, Avermelhada, Acinzentada, Marrom e Preta.
- III. Cor do anel do hilo: Marrom, Marrom escura, Preta.

Para as características de planta e folha, as observações foram realizadas no florescimento pleno, ou seja, quando 50% das plantas apresentavam ao menos uma flor aberta, e para as observações dos caracteres de sementes, foram realizadas logo após a coleta das vagens secas, conforme instruções de Brasil (2010).

3.2 Caracterização molecular

A segunda etapa do experimento foi a caracterização genética dos acessos a nível molecular onde foi conduzida no Laboratório de Biotecnologia Vegetal, na UFERSA, campus sede. Com os genótipos de feijão-caupi plantados em campo, foram realizadas coletas de folhas jovens de uma planta por parcela de cada tratamento, acondicionadas em envelopes devidamente identificadas e reservadas em cooler com gelo, onde foram levadas em seguida para o laboratório, procedendo imediatamente a extração de DNA genômico total para que não houvesse perda por degradação do DNA.

A extração do DNA seguiu conforme o método do CTAB descrito por Doyle e Doyle (1990) com modificações. Na primeira etapa, as amostras do material vegetal foram maceradas em nitrogênio líquido para romper as paredes e membranas celulares do material. Na segunda etapa, as células maceradas são misturadas em um tampão de extração contendo Tris-HCl 100mM pH 8,0; NaCl 500 mM; EDTA 0,20m, β -mercaptoetanol 0,6%, PVP, CTAB 7% e água ultrapura, visando à solubilização de membranas lipoproteicas e à desnaturação de proteínas, enquanto o DNA é protegido da ação de enzimas de degradação. Essa suspensão foi submetida a temperaturas de 65°C durante 40 minutos, vertendo o conteúdo a cada 10 minutos, para facilitar a solubilização e a homogeneização. Na terceira etapa, a suspensão foi submetida à extração com um solvente orgânico (clorofórmio-álcool isoamílico - CIA). As fases orgânica e aquosa são então, separadas por meio de centrifugação. Nesta extração, lipídios, proteínas e a maioria dos polissacarídeos são retidos na fase orgânica inferior, enquanto que o DNA, o RNA e alguns polissacarídeos são retidos na fase superior (aquosa). A fase superior é transferida para um novo micro tubo (do tipo eppendorf), onde é repetida a extração com o CIA. Na quarta etapa, foi usado o isopropanol gelado e adicionado à fase aquosa, separada na etapa anterior. Na presença de álcool, o DNA forma um precipitado,

frequentemente visível, que pode ser “peletizado” por centrifugação, após incubação a -20°C por um tempo que pode variar de ± 30 minutos a 12 horas. Na quinta e última etapa, após lavagens do precipitado de DNA/RNA com álcool 70% e 90%, respectivamente, o pellet foi então ressuspenso em solução de RNase para degradar o RNA, restando apenas o DNA genômico desejado.

O DNA extraído foi quantificado em gel de agarose a 1% corado por brometo de etídeo ($0,5\text{ }\mu\text{g/mL}$) submetido à eletroforese a 120V por 30 minutos. Visualizado em transluminador sob a luz ultravioleta e fotografada em equipamento de fotodocumentação.

O DNA genômico de todos os 26 materiais de feijão-caupi foram amplificados via PCR com os iniciadores RAPD listados na Tabela 2. Cada reação de volume final de $13\text{ }\mu\text{L}$ foi composta 1X Taq Buffer MgCl_2 ; $0,16\text{mM}$ dNTP; $1\text{U}/\mu\text{L}$ Taq DNA Polimerase (Cellco); $0,76\mu\text{M}$ primer; 30ng de DNA e foi amplificada em termociclador (Amplitherm).

A programação utilizada no termociclador para a PCR: desnaturação inicial de 94°C por 5 minutos, seguida de 40 ciclos de amplificação, sendo cada ciclo composto por três etapas:

- a) 92°C (desnaturação) por 1 minuto,
- b) 40°C (anelamento) por 1 minuto
- c) extensão de 72°C por 2 minutos, com extensão final de 72°C por 5 minutos.

Os produtos de PCR foram separados por eletroforese em gel de agarose a 1,2% e, posteriormente fotografada sob a luz ultravioleta e os fragmentos de DNA visualizados com o sistema de fotodocumentação. A leitura dos fragmentos gerados dos marcadores RAPD foram convertidos em matrizes de dados binários, em que o número 1 correspondeu à presença de banda, e o zero, à ausência de bandas.

Após a exclusão dos marcadores monomórficos estimou-se a matriz de similaridade genética entre os genótipos de feijão-caupi, utilizando o complemento aritmético do Índice de Jaccard. Esse coeficiente consiste na comparação do número de presenças de bandas comuns o número total de bandas envolvidas, excluindo o número de ausências conjuntas (MEYER, 2002).

O dendrograma foi obtido pelo método UPGMA (Unweighted Pair Group Method using Arithmetic Averages), no qual é realizada a análise de agrupamento, a partir dos dados da matriz gerada neste estudo pelo índice de Jaccard no software NTSYSPc.

Posteriormente, foi estimada a correlação cofenética entre a matriz de agrupamento e a matriz de distância. Os atributos dos marcadores foram calculados de acordo com os valores de PIC (Conteúdo de Informação Polimórfica), calculado de acordo com Chesnokov & Artemyeva (2015).

Tabela 2 - Identificação (ID), Sequência e Temperatura (°C) de Anelamento (Ta) dos Marcadores Utilizados Neste Estudo.

ID	Sequência	TA(°C)
OPM 04	GGCGGTTGTC	40°
OPM 05	GGAACGTGT	40°
OPA 02	TGCCGAGCTG	40°
OPA 10	GTGATCGCAG	40°
OPA 11	CAATCGCCGT	40°
OPA 14	TCTGTGCTGG	40°
OPA 15	TTCCGAACCC	40°

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Dados Morfológicos

Os dados foram obtidos através de observações visuais em plantas representativas de cada parcela, ainda em campo. A caracterização dos 22 acessos e 4 cultivares de feijão-caupi apresentou variação para os descritores morfológicos analisados quanto ao caráter qualitativo da planta, folha (Tabela 3), inflorescência, vagem e sementes (Tabela 4).

Tabela 3. Descritores morfológicos de planta e folha para os 22 acessos e 4 cultivares de feijão-caupi. Mossoró, 2019.

Acessos	Planta		Folhas		
	Hábito de crescimento	Porte	Forma da Folha	Forma do Foliolo Terminal	Cor da Folha
AC 4	Determinado	Semiereto	Sublanceolada	Lanceolada Alargada	Verde Claro
AC 7	Determinado	Semiprostrado	Sublanceolada	Lanceolada Alargada	Verde Escuro
AC 10	Indeterminado	Semiprostrado	Sublanceolada	Rombóide	Verde Claro
AC 11	Determinado	Ereto	Lanceolada	Lanceolada Alargada	Verde Médio
AC 12	Determinado	Prostrado	Sublanceolada	Lanceolada	Verde Médio
AC 13	Indeterminado	Semiereto	Lanceolada	Lanceolada	Verde Médio
AC 14	Indeterminado	Semiprostrado	Lanceolada	Lanceolada Alargada	Verde Escuro
AC 17	Indeterminado	Semiereto	Sublanceolada	Lanceolada Alargada	Verde Médio
AC 19	Indeterminado	Semiprostrado	Lanceolada	Lanceolada Alargada	Verde Médio
AC 20	Indeterminado	Semiprostrado	Sublanceolada	Lanceolada	Verde Médio
AC 21	Indeterminado	Semiprostrado	Sublanceolada	Lanceolada Alargada	Verde Médio

AC 22	Indeterminado	Semiprostrado	Sublanceolada	Lanceolada Alargada	Verde Médio
AC 23	Indeterminado	Semiprostrado	Sublanceolada	Lanceolada Alargada	Verde Médio
AC 24	Indeterminado	Semiprostrado	Lanceolada	Lanceolada Alargada	Verde Claro
AC 25	Determinado	Ereto	Sublanceolada	Lanceolada	Verde Médio
AC 26	Indeterminado	Semiereto	Lanceolada	Lanceolada Alargada	Verde Médio
AC 28	Indeterminado	Semiprostrado	Sublanceolada	Lanceolada Alargada	Verde Médio
AC 29	Indeterminado	Prostrado	Sublanceolada	Lanceolada Alargada	Verde Médio
AC 31	Indeterminado	Semiprostrado	Sublanceolada	Lanceolada	Verde Médio
AC 32	Indeterminado	Semiprostrado	Sublanceolada	Lanceolada Alargada	Verde Escuro
34 BRS	Indeterminado	Semiprostrado	Globosa	Lanceolada Alargada	Verde Médio
35 BRS	Indeterminado	Semiereto	Globosa	Lanceolada	Verde Médio
36 BRS	Indeterminado	Semiprostrado	Globosa	Lanceolada Alargada	Verde Médio
37 BRS	Indeterminado	Semiprostrado	Globosa	Lanceolada	Verde Médio
AC 38	Indeterminado	Semiprostrado	Sublanceolada	Lanceolada	Verde Médio
AC 39	Determinado	Ereto	Lanceolada	Hastiforme	Verde Escuro

Tabela 4. Descritores morfológicos de inflorescência, vagem e semente para os 22 acessos e 4 cultivares de feijão-caupi. Mossoró, 2019.

Acessos	Inflorescência	Vagem			Sementes		
	Cor da Flor	Pigmentação (Imatura)	Cor Primária (Seca)	Perfil (Seca)	Cor Primária	Cor do Hilo	Forma da Semente
AC 4	Branca	Nenhuma	Amarela	Recurvada	Creme	Marrom C	Rombóide
AC 7	Branca	Nenhuma	Amarela	Recurvada	Creme	Marrom C	Rombóide
AC 10	Branca	Nenhuma	Amarela	Arqueada	Creme	Marrom C	Ovalada
AC 11	Violeta	Nenhuma	Amarela	Arqueada	Marrom	Marrom C	Ovalada
AC 12	Violeta	Nenhuma	Amarela	Recurvada	Marrom	Marrom C	Rombóide
AC 13	Violeta	Nenhuma	Amarela	Arqueada	Marrom	Marrom C	Ovalada
AC 14	Branca	Nenhuma	Amarela	Arqueada	Creme	Marrom E	Rombóide
AC 17	Violeta	Nenhuma	Amarela	Arqueada	Marrom	Marrom C	Rombóide
AC 19	Violeta	Nenhuma	Amarela	Arqueada	Marrom	Marrom E	Ovalada
AC 20	Branca	Nenhuma	Amarela	Arqueada	Creme	Marrom E	Rombóide
AC 21	Branca	Nenhuma	Amarela	Arqueada	Creme	Esverdeado	Arredondada
AC 22	Violeta	Nenhuma	Amarela	Arqueada	Marrom	Esverdeado	Arredondada
AC 23	Branca	Nenhuma	Roxo	Arqueada	Creme	Esverdeado	Rombóide
AC 24	Branca	ManchasP	Amarela	Arqueada	Creme	Esverdeado	Ovalada
AC 25	Branca	Nenhuma	Amarela	Arqueada	Creme	Esverdeado	Reniforme
AC 26	Branca	Nenhuma	Roxo	Arqueada	Creme	Esverdeado	Rombóide
AC 28	Branca	ManchasP	Amarela	Arqueada	Creme	Marrom C	Rombóide
AC 29	Branca	Nenhuma	Amarela	Arqueada	Creme	Marrom C	Rombóide
AC 31	Branca	Manchas P	Roxo	Arqueada	Roxo	Marrom C	Arredondada
AC 32	Branca	PigÁpice	Amarela	Recurvada	Preta	Esverdeado	Rombóide
AC 34	Branca	ManchasP	Amarela	Recurvada	Branca	Marrom C	Arredondada
AC 35	Branca	ManchasP	Roxo	Reto	Branca	Marrom C	Arredondada

AC 36	Violeta	Nenhuma	Amarela	Reto	Esverdeado	Marrom C	Arredondada
AC 37	Violeta	Nenhuma	Amarela	Recurvada	Marrom	Esverdeado	Rombóide
AC 38	Violeta	Nenhuma	Amarela	Arqueada	Marrom	Esverdeado	Rombóide
AC 39	Violeta	Nenhuma	Amarela	Arqueada	Marrom	Marrom C	Rombóide

Pigmentação da Vagem (imatura): (ManchasP) Manchas de pigmentação; (PigÁpice) Pigmentação no ápice. Cor do Hilo: (Marrom C) Marrom claro; (Marrom E) Marrom escuro.

Dentre os genótipos caracterizados na Tabela 3, o hábito de crescimento indeterminado apresentou 76,92% de expressão e o hábito determinado apenas 23,08%. Fonseca et al. (1986) explica que para essa característica o descritor hábito indeterminado é de herança simples com dominância completa.

Do total de plantas avaliadas (Tabela 3) 61,54% apresentaram porte semiprostrado. O restante ficou distribuído em 7,69% para prostrado, 11,54% para ereto e 19,23% para semiereto. Essa variação no porte foi também observada na pesquisa de Rocha (2018) utilizando 58 acessos provenientes do BAG da Universidade Federal do Ceará, evidenciando qualidade quanto à variabilidade no material para atender as diferentes demandas dos agricultores do estado.

A partir da Tabela 3, analisando a associação de descritores morfológicos da planta e folha foi verificado que 61,54% dos acessos correspondem a plantas que possuem hábito de crescimento indeterminado em conjunto com o caráter porte prostrado e semiprostrado. Isso ocorreu, provavelmente, porque os acessos foram coletados dos pequenos agricultores do Rio Grande do Norte, e segundo Silva et al (2018) os pequenos agricultores preferem cultivares de porte mais prostrado, pois apresentam ciclo mais longo e muitas vezes possibilitam mais de uma colheita no mesmo ciclo de produção.

Foi verificado, ainda, na pesquisa de Barreto (2006) que para os agricultores cearenses, o interesse quanto ao porte varia de acordo com o tipo de irrigação. Os agricultores que plantam no período das chuvas, preferem plantas de porte prostrado e semiprostrado. Já os que utilizam sistemas de irrigação, preferem as cultivares de porte ereto. Para Barros et al. (2013) e Oliveira et al. (2015) cultivares de portes mais eretos são procurados para produção em maior escala devido à possibilidade de mecanização da lavoura.

Com relação às características de folhas, as variações ocorreram para o caráter forma da folha no percentual de 57,70% para a forma sub lanceolada, 26,92% lanceolada e para as cultivares 15,38% expressaram forma globosa. Para a forma do folíolo terminal os descritores apresentaram poucas variações onde a forma lanceolada e lanceolada alargada foi de 92,3% de presença, o caráter rombóide expresso no acesso 10 e hastiforme no acesso 39. Para o

descriptor de cor da folha, a cor verde médio exibiu 73,08% e uma média de 13,5% para cada descriptor verde escuro e verde claro dos acessos caracterizados.

A caracterização da inflorescência localizada na Tabela 04, apresenta variabilidade para o descriptor relacionado à cor da flor, sendo 61,53% para a cor branca e 38,47% para cor violeta. Concomitante a isso, ainda de acordo com a Tabela 4 foi observada uma correlação para cor da flor com a cor primária da semente, onde se pode inferir que 46% das plantas estudadas apresentam flores de cor branca e sementes de cor creme, 35% de flores de cor violeta e semente cor marrom, 8% de flores de cor branca e sementes de cor branca, destacando o acesso 31 que apresentou cor de flor branca e cor de semente roxa, o acesso 32 com a cor de flor branca e cor de semente preta e, por fim para esses descritores, a cultivar 36 BRS com a cor de flor violeta e cor de semente esverdeada. A ocorrência dessas variações é característica importante para o melhoramento de plantas.

Costa (2010) estudando divergência genética entre linhagens africanas de feijão-caupi relata que as diferenças visuais exibidas pelos grãos são de extrema importância e de uma região para outra pode ocorrer muita variação, sendo necessária maior atenção do melhorista à preferência dos consumidores.

O percentual de vagens que apresentaram pigmentação em sua fase imatura foi de 23,08% enquanto, 76,92% não apresentaram pigmentação. Para a cor primária da vagem seca foi observado pouca variação quanto a esse descriptor, onde 84,62% das vagens secas colhidas exibem coloração amarela e, 15,38% apresentaram a vagem roxa.

A partir da Tabela 4 foram observados indicativos de elevada variabilidade nos descritores estudados para perfil da vagem seca e forma da semente e, principalmente quando esses dados são associados. Avaliando as vagens secas, podemos inferir que dos 23,08% apresentados é de perfil recurvado e dentro destes, 83,4% possuíam sementes com caráter de forma rombóide e 16,6% a forma arredondada; vagens de perfil arqueadas representam 69,23% dos acessos analisados, sendo que 27,78% destas possuíam sementes ovaladas, 50% sementes rombóides, 16,67% arredondada e apenas 5,55% representado pelo acesso 25 possuía a forma reniforme; para os 7,69% das vagens de perfil reto 100% das sementes possuíam a forma arredondada.

Quanto ao descriptor de cor do hilo, foram caracterizados 53,85% dos acessos para a cor marrom claro, 34,61% para a cor esverdeada e 11,54% para a cor marrom escuro.

O conhecimento da diversidade genética presentes em materiais de uso imediato ou em coleções de Bancos de Germoplasma são indispensáveis e com potencial de uso nas gerações futuras. Tal variabilidade é de suma importância, considerando-a como fonte de

genes de interesse, pois permite a obtenção, via melhoramento genético, de variedades mais produtivas, resistentes e adaptadas aos mais diferentes ambientes (SILVA, 2011).

Os descritores morfológicos de caráter qualitativo são considerados os mais apropriados na determinação de uma cultivar ou variedade, pois são na sua maioria geneticamente controlados e independentes do ambiente e cultivo (CARVALHO et al., 2017). A caracterização morfológica é um importante subsídio no manejo e conservação dos bancos de germoplasma, bem como, um passo para a identificação de novas variedades.

Estes estudos permitem conhecer o grau de variabilidade genética das populações vegetais e subsidiam a seleção de genitores geneticamente divergentes, que poderão ser utilizados em inter cruzamentos para se obter efeito heterótico na geração híbrida e aumentar a probabilidade de recuperação de segregantes superiores em gerações avançadas (CRUZ et al., 2012).

Devido à ampla distribuição geográfica e capacidade adaptativa, as variedades de feijão-caupi apresentam, de forma geral, grande variabilidade para descritores morfológicos, principalmente de coloração e tamanho de sementes, caracteres relacionados à vagem, folhas e de produção (GERRANO et al., 2015). Por outro lado, estudos regionais, que abrangem menor variação ambiental e de formas de cultivo, podem revelar tendências de padronização, principalmente das características de arquitetura da planta, refletindo o tipo de manejo e preferências de consumo (FREIRE FILHO et al., 2009; FREIRE FILHO et al., 2011; OLIVEIRA et al., 2015).

4.2 Dados Moleculares

4.2.1 Análise com marcadores RAPD

Neste estudo, a caracterização molecular dos 26 genótipos de feijão-caupi foi mensurada usando marcadores RAPD (Tabela 5).

Na análise com a técnica RAPD, foram utilizados sete marcadores que produziram fragmentos bem definidos e polimórficos para a caracterização genética dos acessos de feijão-caupi (Figura 2). No total, foram produzidas 61 bandas, das quais 44 (72,13%) foram polimórficas. O número de bandas polimórficas por *primer* variou de 2 (OPM 05) a 10 (OPA 11) com a média de 6,28 fragmentos polimórficos por marcador (Tabela 5).

Tabela 5 - Número Fragmentos Amplificados (N°F_a), Número de Fragmentos Polimórficos (N°F_p), Porcentagem de Polimorfismo (%P), *Polymorphism Information Content* (PIC), dos Marcadores Utilizados Neste Estudo.

ID	N°F _a	N°F _p	% P	PIC
OPM 04	6	4	66,7	0,31
OPM 05	9	2	22,3	0,23
OPA 02	12	9	75,0	0,23
OPA 10	5	4	80,0	0,33
OPA 11	12	10	83,0	0,22
OPA 14	10	9	90,0	0,37
OPA 15	7	6	85,7	0,32
TOTAL	61	44	72,0	Média 0,28

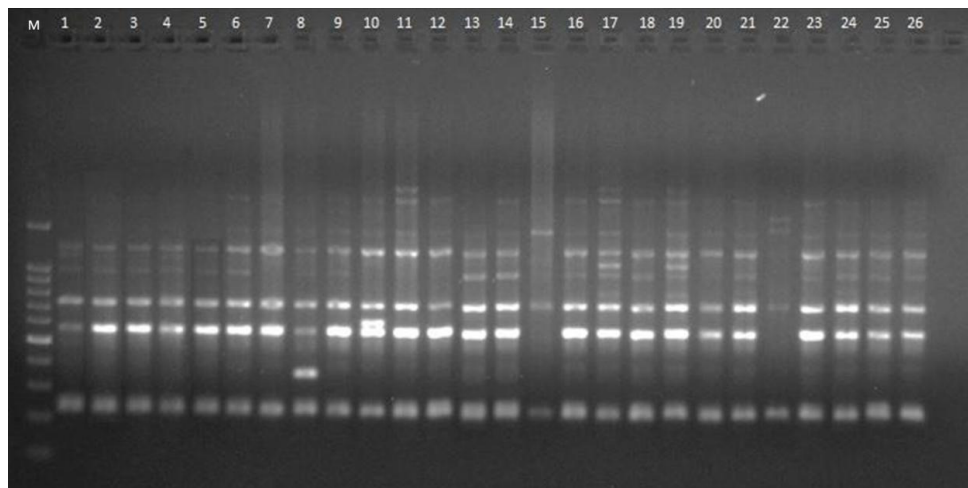


Figura 2 - Eletroforese em gel de agarose (1,2%) mostrando produtos de PCR dos 26 acessos de feijão-caupi amplificado com primer (série OPA) RAPD. A codificação 'M' na primeira canaleta do gel representa o marcador de peso molecular de 100pb. Cada canaleta representa um genótipo dos 26 estudados.

Semelhante a este trabalho, Xavier et al. (2005) estudando a variabilidade genética entre acessos de feijão-caupi da Nigéria, EUA e Brasil, por meio de oito iniciadores RAPD, verificaram a presença de 48 bandas sendo 30 (62,5 %) bandas polimórficas. Dias et al. (2015) verificaram que a utilização dos marcadores RAPD possibilitou maior acesso à variabilidade genética dos genótipos de feijão-caupi estudados do que quando avaliados por

outros marcadores, como por exemplo o ISSR, utilizando o mesmo ponto de corte dos marcadores RAPD.

O conteúdo de informação polimórfica (PIC) por iniciador (Tabela 5) variou de 0,22 a 0,37 com uma média de 0,28. Marcadores com valores de PIC superiores a 0,5 são considerados muito informativos, valores entre 0,25 e 0,5 medianamente informativo e valores inferiores a 0,25 pouco informativos (BOTSTEIN et al., 1980). Marloni et al. (2007), comentam que o PIC está relacionado com o número de alelos, que, por sua vez, está diretamente associado à divergência genética e ao número de genótipos em estudo. Resultados apresentando valores de PIC semelhantes a deste trabalho foram observados por Muthusamy et al. (2008). Esses autores estudaram a variabilidade genética em genótipos *Vigna umbellata* e verificaram um valor de PIC médio em torno de 0,203.

A planilha de matriz de similaridade genética dos 26 genótipos de feijão-caupi apresentada na Tabela 6 foi construída utilizando o coeficiente de similaridade de Jaccard para estimar a divergência genética, e obtida a partir de uma matriz binária dos dados com informações referentes à presença e ausência de bandas geradas de cada iniciador.

O coeficiente de Jaccard baseado nos marcadores RAPD variou de 0,16 a 0,86 onde valores próximos de 1,0 indicam aproximação genética entre os genótipos, ou seja, maior similaridade e, para valores distantes de 1,0 e próximos de 0,0 indicam maior distância genética, ou seja, menor similaridade.

A máxima distância foi observada entre os acessos AC 32 e AC 39 (0,16) sendo, portanto, os materiais mais divergentes no estudo, e a mínima distância foi observada entre os acessos AC 13 e AC 17 (0,86), sendo assim os mais similares.

TABELA 6. Matriz de similaridade genética entre 26 genótipos de feijão-caupi, calculadas com base no complemento do coeficiente de Jaccard, utilizando 7 marcadores RAPD.

Nº	11	13	17	14	19	22	20	32	25	04	37	28	10	26	34	24	39	35	12	07	36	38	31	21	23	29
11	1,000																									
13	0,833	1,000																								
17	0,720	0,864	1,000																							
14	0,708	0,773	0,810	1,000																						
19	0,548	0,586	0,667	0,720	1,000																					
22	0,667	0,714	0,679	0,667	0,625	1,000																				
20	0,613	0,655	0,621	0,607	0,733	0,800	1,000																			
32	0,346	0,375	0,391	0,364	0,276	0,345	0,258	1,000																		
25	0,667	0,778	0,741	0,607	0,625	0,862	0,742	0,393	1,000																	
04	0,548	0,643	0,607	0,483	0,515	0,677	0,677	0,370	0,793	1,000																
37	0,286	0,308	0,320	0,292	0,267	0,333	0,290	0,667	0,379	0,462	1,000															
28	0,480	0,522	0,417	0,391	0,345	0,464	0,414	0,182	0,464	0,393	0,227	1,000														
10	0,655	0,769	0,731	0,654	0,724	0,793	0,793	0,321	0,857	0,667	0,267	0,444	1,000													
26	0,724	0,778	0,679	0,607	0,529	0,800	0,688	0,393	0,862	0,733	0,379	0,464	0,733	1,000												
34	0,586	0,630	0,593	0,577	0,548	0,724	0,724	0,207	0,667	0,600	0,200	0,370	0,714	0,667	1,000											
24	0,714	0,704	0,667	0,654	0,563	0,857	0,677	0,370	0,793	0,667	0,357	0,500	0,724	0,733	0,655	1,000										
39	0,533	0,571	0,536	0,464	0,412	0,613	0,471	0,167	0,613	0,500	0,200	0,423	0,548	0,568	0,484	0,600	1,000									
35	0,414	0,444	0,520	0,500	0,483	0,500	0,452	0,429	0,552	0,536	0,409	0,185	0,483	0,500	0,414	0,483	0,281	1,000								
12	0,438	0,517	0,483	0,464	0,412	0,613	0,471	0,400	0,613	0,600	0,440	0,276	0,548	0,568	0,438	0,600	0,533	0,577	1,000							
07	0,679	0,667	0,630	0,556	0,531	0,700	0,700	0,333	0,700	0,815	0,423	0,407	0,581	0,700	0,567	0,690	0,516	0,500	0,567	1,000						
36	0,586	0,692	0,654	0,577	0,500	0,724	0,613	0,346	0,786	0,655	0,333	0,480	0,655	0,852	0,586	0,655	0,586	0,464	0,484	0,567	1,000					
38	0,548	0,533	0,500	0,433	0,471	0,576	0,576	0,194	0,576	0,471	0,188	0,300	0,613	0,576	0,600	0,471	0,455	0,303	0,412	0,485	0,500	1,000				
31	0,483	0,577	0,482	0,520	0,452	0,679	0,516	0,391	0,621	0,500	0,375	0,619	0,552	0,679	0,483	0,607	0,433	0,357	0,483	0,467	0,654	0,452	1,000			
21	0,643	0,630	0,536	0,519	0,412	0,724	0,563	0,400	0,667	0,548	0,385	0,542	0,548	0,786	0,533	0,655	0,533	0,323	0,438	0,621	0,704	0,500	0,792	1,000		
23	0,500	0,593	0,556	0,482	0,567	0,633	0,581	0,172	0,690	0,621	0,207	0,565	0,679	0,633	0,552	0,621	0,667	0,379	0,452	0,533	0,667	0,424	0,556	0,500	1,000	
29	0,571	0,680	0,577	0,560	0,484	0,714	0,600	0,435	0,714	0,643	0,478	0,591	0,643	0,714	0,517	0,704	0,467	0,393	0,517	0,607	0,630	0,394	0,783	0,760	0,593	1,000

O dendrograma obtido através do método UPGMA com os coeficientes de similaridade de Jaccard indicou que estes estavam agrupados em oito grupos principais no nível de 60,0% de similaridade (Figura 3). Dwivedi et al. (2001) trabalhando com 26 acessos de amendoim e oito iniciadores RAPD foram capazes de realizar o agrupamento desses genótipos em cinco grupos, já Xavier et al. (2005) estimando a variabilidade genética em feijão-caupi através de oito iniciadores RAPD verificaram o agrupamento de 45 acessos de feijão-caupi em quatro grupos. Esses resultados demonstram a eficiência dos marcadores na detecção do polimorfismo genético.

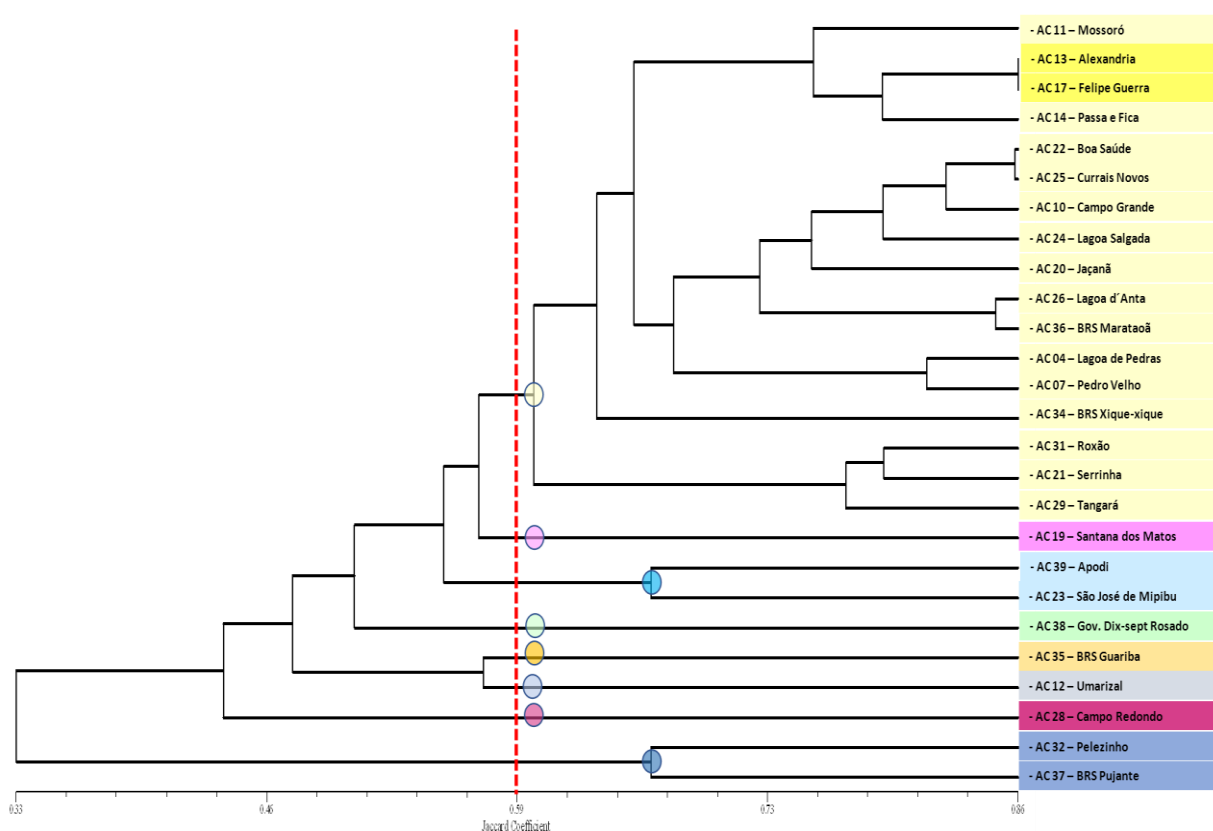


Figura 3 – Dendrograma obtido pelo método UPGMA utilizando os coeficientes de Jaccard derivado da análise com os marcadores RAPD dos 26 genótipos de feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp).

O grupo 1 foi composto por dezessete representantes, sendo eles, AC 11, AC 13, AC 17, AC 14, AC 22, AC 25, AC 10, AC 24, AC 20, AC 26, 36 BRS, AC 04, AC 07, 34 BRS, AC 31, AC 21 e AC 29. O grupo 2 composto pelo acesso AC 19. O grupo 3 alocou os acessos AC 39 e AC 23. O grupo 4 formado pelo acesso AC38, o grupo 5 com a cultivar 35 BRS, grupo 6 composto pelo acesso AC 12, o grupo 7 com o acesso AC 28, e o grupo 8 composto pelo acesso AC 32 e cultivar 37 BRS (Figura 3).

Observa-se na Figura 3 que os acessos AC13 e AC17 identificados como os indivíduos mais próximos pela matriz de Jaccard, estiveram presentes no mesmo grupo I, no dendrograma. Essa menor distância genética encontrada no grupo 1 também pode ser observada na caracterização morfológica (Tabela 03 e 04) quando estes apresentam caracteres similares nos descritores de planta, inflorescência, vagem e semente estudados. Portanto, esse evento pode indicar duplicidade de acessos, tendo em vista a possibilidade de misturas e trocas de sementes por parte dos agricultores locais, já que geograficamente são municípios próximos (figura1).

Os genótipos mais distantes, segundo os dados de similaridade da matriz de Jaccard, os acessos AC32 e AC39, aparecem em grupos de divergência no dendrograma, ou seja, provavelmente, um menor grau de parentesco foi encontrado nestes acessos. Embora, estes tenham apresentado alguma similaridade entre os constituintes morfológicos analisados, o AC32 exibe a cor preta para suas sementes, acesso com característica única entre os genótipos do estudo (Tabela 4). Segundo Carvalho et al. (2008), é importante ressaltar que os marcadores RAPD, por apresentarem distribuição ao acaso no genoma, medem uma dissimilaridade que não está, necessariamente, ligada a características morfológicas ou de interesse agrônomo.

O grupo 08 composto pelos acessos AC 32 (Pelezinho) e a cultivar comercial 37 BRS Pujante apresentou-se como o mais divergente entre todos os genótipos avaliados no dendrograma construído. Para Gupta *et al.* (2014) a identificação de genótipos superiores com base na divergência genética é a estratégia mais adequada para iniciar um programa de melhoramento. Sendo importante ressaltar que é mais efetivo realizar cruzamentos entre genótipos altamente divergentes, no entanto com um bom potencial produtivo.

O coeficiente de correlação cofenética (CC) foi de 0,87. O CC é utilizado para avaliar a confiabilidade dos agrupamentos gerados no programa, estimando-se o grau de concordância entre o dendrograma gerado pelo método de agrupamento escolhido e a matriz de distâncias. Segundo Rohlf (1993) o valor limite para indicar que o método de agrupamento está adequado, são valores iguais e superiores a 0,70. Vaz Patto *et al.* (2004), diferente de Rohlf, admite que valores acima de 0,56 já podem ser considerados ideais. Diante do exposto, os valores da análise de CC do presente estudo, utilizada para avaliar a correlação dos dados da matriz de similaridade com o dendrograma das análises foram satisfatórios.

Os marcadores RAPD se mostraram ferramentas eficientes em revelar a diversidade genética dos 26 genótipos de feijão-caupi, em que os dados de similaridade, ou dissimilaridade genética, podem ser úteis em programa de melhoramento genético, pois é um

dos parâmetros utilizados na escolha de genitores para realização de cruzamentos (GUIMARÃES et al., 2007). Segundo Carvalho et al. (2008), desse modo, a magnitude das diferenças de dissimilaridade, observadas entre os genótipos, pode não refletir de maneira direta a magnitude das diferenças agronômicas, fazendo-se necessária a avaliação agronômica destes genótipos antes de sua utilização pelo melhorista.

5 CONCLUSÃO

Os acessos de feijão-caupi coletados nos municípios do Rio Grande do Norte apresentam variabilidade para os descritores morfológicos avaliados.

Os acessos AC11, AC25 e AC39 apresentaram hábito de crescimento determinado e porte ereto, caráter com potencial de uso na agricultura tecnificada.

Os acessos AC32 e AC39 apresentaram maior divergência, 16,7% de similaridade, podendo ser utilizados em cruzamentos.

Os acessos AC13 e AC17, são morfológicamente e geneticamente semelhantes, apresentando 86% de similaridade.

Os marcadores RAPD detectaram oito grupos para os 26 genótipos pelo método UPGMA.

REFERÊNCIAS

- ALLANTOSPERMUM, A. et al. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. **Botanical Journal of the Linnean Society**, London, v. 181, n. 1, p. 1-20, 2016.
- ALGHAMDI, S.S; KHAN, H.M; MIGDADI, E.H; EL-HARTY, M; AFZAL, FAROOQ, M. **Biochemical and molecular characterization of cowpea landraces using seed storage protein and SRAP marker patterns**, Saudi Journal of Biological Sciences, 2018.
- AMORIM, L. L. B. **Construção De Um Mapa Genético Para Feijão-Caupi Com Marcadores Moleculares Issr, Daf E Caps**. 2009. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) – Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco, Recife.
- BARROS, M. A.; ROCHA, M. D. M.; GOMES, R. L. F.; SILVA, K. J. D.; NEVES, A. C. D. Adaptabilidade e estabilidade produtiva de feijão-caupi de porte semiprostrado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. 48:403-410, 2013.
- BHATTARAI, K.; LOUWS, F. J.; WILLIAMSON, J. D.; PANTHEE, D. R. Diversity analysis of tomato genotypes based on morphological traits with commercial breeding significance for fresh market production in eastern USA. **Australian Journal of Crop Science**, v. 10, n. 8, p. 1098, 2016.
- BINNECK, Eliseu; NEDEL, Jorge Luiz; DELLAGOSTIN, Odir A. Análise de rapd na identificação de cultivares: uma metodologia útil? **Revista Brasileira de Sementes**, vol. 24, nº 1, p.183-196, 2002.
- BOTSTEIN, D.; WHITE, R. L.; SKOLNICK, M.; DAVIS, R. W. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. **American journal of human genetics**, v. 32, n. 3, p. 314, 1980.
- BOUKAR, Ousmane *et al.* GENOMIC TOOLS IN COWPEA BREEDING PROGRAMS: Status and Perspectives. **Frontiers In Plant Science**, [s.l.], v. 7, p.1-13, 3 jun. 2016. Frontiers Media SA. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3389/fpls.2016.00757>>. Acesso em: 03 mai 2020.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Formulário 3 - Espécies passíveis de proteção: Instruções de DHE e Descritores Mínimos – Agrícolas – feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.)**. 2010. Publicado no DOU nº 160, de 20/08/2010, Seção 1, Páginas 6 e 7. Disponível em: <<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-agricolas/protecao-de-cultivar/agricolas>>. Acesso em: 29 set. 2020.
- CABRAL, P. D. S.; SOARES, T. C. B.; LIMA, A. B. P.; ALVES, D. S.; NUNES, J. A. (2011). Diversidade genética de acessos de feijão comum por caracteres agrônômicos. Fortaleza: **Revista Ciência Agronômica**, v. 42, n. 4, p. 898-905, 2011.
- CAMINHA, M.G.; SILVA, V.B.; OLIVEIRA, F.S.; LINO, D.R.; BERTINI, C.H.C.M. Caracterização morfológica de cultivares locais de feijão-caupi com base em descritores qualitativos. In: II SIMPÓSIO DA REDE DE RECURSOS GENÉTICOS VEGETAIS DO

NORDESTE, 2015, Fortaleza. **Anais do II Simpósio da RGV Nordeste**. Fortaleza, Embrapa Agroindústria Tropical, 2015 (R 27).

CARVALHO, M. et al., European cowpea landraces for a more sustainable agriculture system and novel foods. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. v. 97, n. 13, p.4399-4407, 2017.

CARVALHO, M.; CASTRO, I.; MATOS, M.; LINO-NETO, T.; SILVA, V.; ROSA, E.; CARNIDE, V.. Caracterização agro-morfológica de acessos de feijão-frade (*Vigna unguiculata*): bases para o melhoramento. **Revista de Ciências Agrárias**. vol. 39 n.º 4, 2016. DOI: <https://doi.org/10.19084/RCA16091>

CARVALHO, M. F. et al. Caracterização da diversidade genética entre acessos crioulos de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) coletados em Santa Catarina por marcadores RAPD. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.38, n.6, p.1522-1528, set, 2008. ISSN 0103-8478

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

CONAB. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos**. v. 4 - Safra 2016/17 n.12 - Décimo segundo levantamento, setembro 2017.

CONAB, Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos**, v. 6 Safra 2018/19 - Quarto levantamento, Brasília, p. 1-126, janeiro 2019.

CONAB, Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos**. v. 7 - Safra 2019/20 n.9 - Nono levantamento, junho 2020.

CONAB, Companhia Nacional de Abastecimento. **Perspectivas para a agropecuária**, v. 6 Safra 2018/2019 - Brasília, 2018.

COSTA, Eva Maria. **Divergência genética entre linhagens africanas de feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) através de caracterização morfoagronômica e molecular**. 2010. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal Rural de Pernambuco. Recife, PE, 2010.

CRUZ, C. D. et al., **Modelo biométrico aplicado ao melhoramento genético**. 4 ed. Viçosa: UFV, 2012. v.1, 514 p.

CRUZ, C. D.; FERREIRA, F.M.; PESSONI, L.A. **Biometria aplicada ao estudo da diversidade genética**, Viçosa: UFV, 2011. 620 p.

CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. UFV, 2001. 390p.

DAMASCENO & SILVA, K. J.. **Estatística da produção de feijão-caupi**. EMBRAPA Meio-Norte, 2009.

DE RON, A. P; BEBELI, P. J; NEGRI, V; PATTO, M. C. V; REVILLA, P. WARM SEASON GRAIN LEGUME LANDRACES FROM THE SOUTH OF EUROPE FOR GERMPLASM CONSERVATION AND GENETIC IMPROVEMENT. **Frontiers in Plant Science**. Volume 9, 2018.

DIAS, F. T. C.; BERTINI, C. H. C. de M.; SILVA, A. P. M. da S. e CAVALCANTI, J. J. V.. Variabilidade genética de feijão-caupi de porte ereto e ciclo precoce analisada por marcadores RAPD e ISSR1. **Revista Ciência Agronômica**, v. 46, n. 3, p. 563-572, jul-set, 2015

DOYLE, J.J.; DOYLE, J.L. **Isolation of plant dna from fresh tissue**. Focus 12: 13-15, 1990.

FERREIRA, E. S.; CAPRARO, J.; SESSA, F.; MAGNI, C.; DEMONTE, A.; CONSONNI, A.; NEVES, V. A.; CILLI, E. M.; DURANTI, M.; SCARAFONI, A. **New molecular features of cowpeas bean (*Vigna unguiculata*, L. Walp) β -vignin**. Bioscience, Biotchnology, and Biochemistry, 2018.

DUROJAYE, A. H.; MOUKOUMBI, Y. D.; DANIA V. O.; BANDYOPADHYAY; ORTEGA-BELTRAN, A. **Evaluation of cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) landraces to bacterial blight caused by *Xanthomonas axonopodis* pv. Vignicola**. Elsevier, v116, 2019, p77-81.

DWIVEDI, S. L.; GURTU, S.; CHANDRA, S.; YUEJIN, W.; NIGAM, S. N. Assessment of genetic diversity among selected groundnut germplasm: 1- RAPD analysis. **Plant Breeding**, v. 120, p. 345-359, 2001.

EHLERS, J. D.; HALL, A. E. Cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.). **Field Crops Research**, vol. 53, 187-204, 1997.

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**. Brasília: Embrapa, 2011.

FAO - FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **Crops: cowpeas**, dry. Disponível em: <http://www.fao.org/faostat/es/#data/QC/visualize>. Acesso em: 19 set. 2020.

FERREIRA, E.S; CAPRARO, J; SESSA, F; MAGNI, C; DEMONTE, A; CONSONNI, A; NEVES, V.A; CILLI, E.M; DURANTI, M; SCARAFONI, A. **NEW MOLECULAR FEATURES OF COWPEA BEAN (VIGNA UNGUICULATA, L. WALP) B-VIGNIN**. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 2018.

FERREIRA, M.E.; GRATAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética**. 3ª ed. Brasília: EMBRAPA/CENARGEN. 220p. 1998.

FONSECA, N.; SILVA, S. de O.; SAMPAIO, J.M.M. Caracterização e avaliação de cultivares de manga na região do recôncavo baiano. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 16, p. 29-54, 1994.

FONSECA, J. R.; SARTORATO, A.; RAVA, C. A.; COSTA, J. G. C.; FREIRE, M. S.; ANTUNES, I. F.; TEIXEIRA, M. G.; SILVA, J. G. **Características botânicas, agronômicas e fenológicas de feijão coletadas na região do Recôncavo Baiano**. Goiânia, GO: Embrapa-CNPAP, 1986. 27 p. (Boletim de pesquisa, 4)

FREIRE FILHO, F.R.; RIBEIRO, V.Q.; ROCHA, M.M.; SILVA, K.J.D.; NOGUEIRA, M.S.R.; RODRIGUES, E.V. **Feijão-caupi no Brasil: produção, melhoramento genético, avanços e desafios**. Teresina: Embrapa Meio-Norte, 84 p. 2011.

FREIRE FILHO, Francisco Rodrigues; LIMA, José Albérico de Araújo; RIBEIRO, Valdenir Queiroz. **Feijão-caupi: avanços tecnológicos**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2005, 519p.

FREIRE FILHO, F. R.; CRAVO, M. da S.; RIBEIRO, V. Q.; ROCHA, M. de M.; CASTELO, E. de O.; BRANDÃO, E. dos S.; BELMINO, C. S.; MELO, M. I. S. BRS Milênio e BRS Urubuquara: cultivares de feijão-caupi para a região Bragantina do Pará. **Revista Ceres**, Viçosa, MG, v. 56, n. 6, p. 749-752, 2009.

FREIRE FILHO, F. R. de. **Origem, evolução e domesticação do caupi**. Teresina: EMBRAPA Meio-Norte, 1988.

GERRANO, A. S.; ADEBOLA, P. O; RENSBURG, W. S. J. van; LAURIE, S. M. Genetic variability in cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) genotypes. **South African Journal of Plant and Soil**, Pretoria, v, 32, n. 3, p. 165-174, 2015.

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

GUPTA, S. K.; BANSAL, R.; GOPALAKRISHNA, T.. Development and characterization of genic SSR markers for mungbean (*Vigna radiata* (L.) Wilczek). **Euphytica**, v. 195, n. 2, p. 245-258, 2014.

HOFFMAN, L. V.; BARROSO, P. A. V. **Marcadores moleculares como ferramentas para estudos de genética de plantas**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Campina Grande, 2006.

HUYNH, B. L.; CLOSE, T. J.; ROBERTS, P. A.; HU, Z.; WANAMAKER, S.; LUCAS, M. R.; CHIULELE, R.; CISSÉ, N.; DAVID, A.; HEARNE, S.; FATOKUN, C.; DIOP, N.N.; EHLERS, J. D. Gene pools and the genetic architecture of domesticated cowpea. **The Plant Genome**. 6:1-8 2013.

KARASAWA, M.; RODRIGUES, R.; SUDRÉ, C. P.; SILVA, M. D.; RIVA, E. M.; AMARAL JUNIOR, A. D. APLICAÇÃO DE MÉTODOS DE AGRUPAMENTO NA QUANTIFICAÇÃO DA DIVERGÊNCIA GENÉTICA ENTRE ACESSOS DE TOMATEIRO. **Horticultura Brasileira**, v. 23, n. 4, p. 1000-1005, 2005.

LEITE, D.L.; ANTHONISEN, D. CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE CULTIVARES DE CEBOLA POR MARCADORES DE RAPD. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 21, p. 420-424. 2009.

MENDONÇA, C. A.; BARROSO NETO, A. M.; BERTINI, C. H. C. M.; AMORIM, M. Q.; ARAÚJO, L. B. R. CARACTERIZAÇÃO FENOLÓGICA ASSOCIADA A GRAUS-DIA EM GENÓTIPO DE FEIJÃO-CAUPI PARA PRODUÇÃO DE GRÃOS VERDES. **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, v. 11. n. 21, p. 485, 493, jun. 2015.

MEYER, A. da S. **Comparação de coeficientes de similaridade usados em análises de agrupamento com dados de marcadores moleculares dominantes**. 2002. 106 p. Dissertação (Mestrado). Universidade de São Paulo. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. Piracicaba, SP. 2002

MILLACH, S.C.K. **Marcadores moleculares em plantas**. Porto alegre. 1998. 141p.

MUTHUSAMY, S.; KANAGARAJAN, S.; PONNUSAMY, S. Efficiency of RAPD and ISSR markers system in accessing genetic variation of rice bean (*Vigna umbellata*) landraces. **Electronic Journal Of Biotechnology**, v. 11 n. 3, p.1-10, 2008.

- NASCIMENTO, Hoston Tomás Santos do. Apresentação. In: FREIRE FILHO, Francisco Rodrigues et al. **Coleção ativa de germoplasma de feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) e de outras espécies do gênero *vigna*, da EMBRAPA Meio-Norte, no período de 1976 a 2003**. Teresina: Embrapa, p. 8-8. 2011. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/84204/1/DOC209.pdf>>. Acesso em: 02 mai. 2020.
- NEVES, A. L. R.; LACERDAL, C. F.; GUIMARÃES, F. V. A.; HERNANDEZ, F. F.; PRISCO, F. B. J. T.; GHEYI, H. R. 2009. Acumulação de biomassa e extração de nutrientes por plantas de feijão-de-corda irrigadas com água salina em diferentes estádios de desenvolvimento. **Ciência Rural**, v.39, n.3, p.758- 765. 2009.
- NG, N. Q.; MARECHAL, R. Cowpea taxonomy, origin and germplasm. In: . **Cowpea research, production, and utilization**. Chichester: Wiley, 1985. p. 11-21.
- OLIVEIRA, F. N.; TORRES, S. B.; BEBEDITO, C. P.; Caracterização botânica e agrônômica de acessos de feijão-fava, em Mossoró, RN. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 24, n. 1, p. 143-148, jan./mar. 2011.
- OLIVEIRA, E. de; MATTAR, E. P. L.; ARAÚJO, M. L. de; JESUS, J. C. S. de; NAGY, A. C. G.; SANTOS, V. B. dos. Descrição de cultivares locais de feijão-caupi coletados na microrregião Cruzeiro do Sul, Acre, Brasil. **Acta Amazônica**, Manaus, v. 45, n. 3, p. 243-254, 2015.
- PASQUET, R. S. **Estudo morfológico de feijão-caupi cultivado *Vigna unguiculata* (L.) Walp. Importância do número de óvulos e definição de cv gr *Melanophthalmus***. Agronomie, Elsevier, Paris, 1998.
- PAULINO, J. S.; GOMES, R. A. **Sementes da Paixão: Agroecologia e resgate da tradição**. Piracicaba-SP, Vol. 53, Nº 03, p. 517-528, Jul/Set 2015.
- PEREIRA, M. G.; PEREIRA, T. N. S.; COSTA, F. Marcadores moleculares no pré-melhoramento de plantas. In: BORÉM, A.; CAIXETA, E. T. **Marcadores moleculares**. 2ª Ed. Viçosa, p. 103-128. 2009.
- RAMALHO, M. A. P.; ABREU, A. F. B. (2015) Obtenção de Cultivares. In: CARNEIRO, J.E.S.; PAULA JÚNIOR, T.J. de; BORÉM, A. (ed.). **Feijão: do plantio a colheita**. UFV, Viçosa, p. 384.
- RAMALHO, M. A. P. et al. **Aplicações da genética quantitativa no melhoramento de plantas autógamas**. Lavras: Ed. UFLA, 2012.
- RAWAL, K. M. Natural hybridization among wild, weedy and cultivated *Vigna unguiculata* (L.) Walp. **Euphytica**, Wageningen, v. 24, n. 3, p. 699-707, 1975.
- ROCHA, M. de M.; DAMASCENO E SILVA, K. J.; MENEZES JÚNIOR, J. Â. N. de; HASHIMOTO, J. M. **Feijão caupi: melhoramento genético para o avanço da cultura**. Teresina, PI: Embrapa Meio-Norte, 2016. 1 folder.
- ROCHA, M. de M et al. **Feijão-caupi - Biologia Floral**. [S.1.]: Teresina, Embrapa Meio-Norte, 2007.

ROCHA, M. M.; CARVALHO, K. J. M. de; FREIRE FILHO, F. R.; LOPES, A. C. de A.; GOMES, R. L. F.; SOUSA, I. S. Controle genético do comprimento do pedúnculo em feijão-caupi. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 44, n. 3, p. 270-275, mar. 2009.

ROHLF, F. J. Numeric taxonomy and multivariate analysis system. **NTSYS-pc**, 1993

SANTANA, J. G. S.; NASCIMENTO, A. L. S.; COSTA, T. S.; ALMEIDA T. B. M.; RABBANI A. R. C.; SILVA, A. V. C. **Estimation of genetic diversity in a natural populatioin of cambui tree (*Myrciaria tenella* O. Berg) using ISSR markers**. Genetics and Molecular Research . 2016. gmr: 15048819.

SANTOS, Ana Claudia Schllemer dos. **Caracterização morfoagronômica e molecular de genótipos de feijão**. 2019. Dissertação (Mestrado) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos. 2019.

SEAB - SECRETARIA DE ESTADO DA AGRICULTURA E DO ABASTECIMENTO. **Feijão: Análise da Conjuntura Agropecuária**. Paraná, 2018. Disponível em: http://www.agricultura.pr.gov.br/sites/default/arquivos_restritos/files/documento/2019-09/feijao_2019_v1.pdf . Acesso em: 20 set. 2020.

SILVA, M.B.O.; CARVALHO, A.J.; BATISTA, P.S.C.; SANTOS JÚNIOR, P.V.; Oliveira, S.M. de. Desempenho agrônômico de genótipos de feijão-caupi. **Revista de Ciências Agrárias**, v.41, n.4, 2018. DOI: <https://doi.org/10.19084/RCA17309>.

SILVA, R. N. O. **Diversidade genética em feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.) por marcadores morfoagronômicos e moleculares**. Teresina: UFPI, 175p., 2011.

SILVA, H. T. **Descritores mínimos indicados para caracterizar cultivares/variedades de feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.)**. 2005. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 32p.

SOBRAL, P. V. C. **Caracterização morfoagronômica e divergência genética entre acessos africanos de feijão-caupi**. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Piauí, 2009.

SOBRINHO, C. A. **Árvore do conhecimento: feijão caupi**. Agência Embrapa de Tecnologia-Ageitec, 2017.

TREMEA, A.; BRIDI, M.; MEDEIROS, C.; FARIA, M. V. Divergência genética entre variedades crioulas e melhoradas de feijão. Paraná. **Anais...** 2007.

SOUZA, Suziane Maria Silva De. **Variabilidade morfoagronômica de variedades tradicionais de feijão-caupi do acre**. 2016. 69 f. Dissertação - Programa de Pós-graduação em Agronomia, Universidade Federal do Acre, Rio Branco, 2016.

TEIXEIRA, I. R.; SILVA, G. C.; OLIVEIRA, J. P. R.; SILVA, A. G. S.; PELÁ, A. Desempenho agrônômico e qualidade de sementes de cultivares de feijão-caupi na região do cerrado. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 41, n. 2, p. 300-307, abr./jun. 2010.

SOUSA, J. L. M.; ROCHA, M. M. SILVA, K. J. D.; NEVES, A. C.; SOUSA, R. R. Potencial de genótipos de feijão-caupi para o mercado de vagens e grãos verdes. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 50, n. 5, p. 392-398, mai. 2015.

VALE, J.C. do; BERTINI, C.; BOREM, A. **Feijão-caupi: do plantio a colheita**. 1. ed. Viçosa, MG: Ed. UFV, 2017. 267 p.

VALLS, J. F. M. Caracterização morfológica, reprodutiva e bioquímica de germoplasma. **Anais do Encontro sobre Recursos Genéticos**. Jaboticabal: FCAV, p. 106-120, 1988.

XAVIER, G. R. *et al.* Variabilidade genética em acessos de caupi analisada por meio de marcadores RAPD. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 40, n. 4, p. 353-359, 2005.

ZIMMERMANN, M.J.O.; TEIXEIRA, M.G. Origem e evolução. In: ARAUJO, R. S.; RAVA, C. A.; STONE, L. F. ZIMMERMANN, M. J. O. (eds). **Cultura do feijoeiro comum no Brasil**. Piracicaba: Potafos, 1996. p.101-137.