

# Caracterização agro-morfológica de acessos de feijão-frade (*Vigna unguiculata*): bases para o melhoramento

## Agro-morphological characterization of cowpea (*Vigna unguiculata*) accessions: basis to breeding

Márcia Carvalho<sup>1,\*</sup>, Isaura Castro<sup>1,2</sup>, Manuela Matos<sup>2,3</sup>, Teresa Lino-Neto<sup>4</sup>, Valéria Silva<sup>5</sup>, Eduardo Rosa<sup>1</sup> e Valdemar Carnide<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Centro de Investigação e de Tecnologias Agro-Ambientais e Biológica (CITAB), Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro (UTAD), 5000-801 Vila Real, Portugal;

<sup>2</sup> Departamento de Genética e Biotecnologia, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro (UTAD), 5000-801 Vila Real, Portugal;

<sup>3</sup> Instituto de Biosistemas e Ciências Integrativas (BioISI), Faculdade de Ciências, Universidade de Lisboa, Campo Grande, 1749-016 Lisboa, Portugal;

<sup>4</sup> Instituto de Biosistemas e Ciências Integrativas (BioISI), Centro de Biologia Funcional de Plantas (CBFP), Universidade do Minho, Campus de Gualtar, 4710-057 Braga, Portugal;

<sup>5</sup> Centro de Ciência Animal e Veterinária (CECAV), Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, Departamento de Ciências Veterinárias, 5000-801 Vila Real, Portugal.

(\*E-mail:marciac@utad.pt)

<http://dx.doi.org/10.19084/RCA16091>

Recebido/received: 2016.07.15

Aceite/accepted: 2016.12.07

### RESUMO

A caracterização morfológica dos recursos genéticos é essencial para o conhecimento da variação fenotípica e das relações entre génotipos, sendo esta informação fundamental no desenvolvimento de programas de melhoramento. O feijão-frade é uma leguminosa de grão cultivada um pouco por todo mundo devido ao seu elevado valor nutritivo, capacidade de fixar azoto e tolerância à seca. Com o objetivo de caracterizar uma coleção de 27 acessos portugueses de feijão-frade e 5 testemunhas procedeu-se à sua caracterização por parâmetros morfológicos e agronómicos com base em seis características qualitativas e onze quantitativas. Os acessos apresentaram, na sua maioria, hábito de crescimento ereto (96,87%), flores brancas (87,50%) e sementes de cor creme (84,38%). Os acessos mais precoces atingiram a floração 77 dias após a sementeira e o mais tardio após 119 dias. O número médio de vagens por planta variou entre 8,08 e 31,50, o peso médio de 100 sementes entre 11,80 g e 30,85 g e a produção total entre 40,96 g.m<sup>-2</sup> e 153,65 g.m<sup>-2</sup>. Em conclusão, foi observada uma elevada variabilidade entre os acessos de feijão-frade estudados, a qual poderá ser utilizada em programas de melhoramento desta cultura. Visto que algumas das características morfológicas sofrem influência das condições ambientais, é importante complementar a caracterização destes acessos com estudos moleculares.

**Palavras-chave:** *Vigna unguiculata* L. Walp.; variedades locais; recursos genéticos; características fenotípicas.

### ABSTRACT

The morphological characterization of plant genetic resources is essential for the knowledge of phenotypic variation and relationships among genotypes. This information could be useful in the development of plant breeding programs. Cowpea is a grain legume cultivate worldwide due to its high nutritional values, nitrogen-fixing ability and adaptation to drought. A collection of 27 Portuguese cowpea accessions and 5 references were characterized by morphological and agronomic parameters, using six qualitative and eleven quantitative parameters. All accessions presented determinate growth and normal pods. Most of the accessions had erect growth habit (96.87%), white flowers (87.50%) and cream seeds (84.38%). The earliest accessions reached flowering at 77 days and the latest at 119 days after sowing. Concerning production traits, in average, the number of pods per plant ranged from 8.08 to 31.50 pods, the 100 seeds weight varied from 11.80 g to 30.85 g, and the total production from 40.96 g.m<sup>-2</sup> to 153.65 g.m<sup>-2</sup>. In conclusion, a high variability was observed in this cowpea collection, which may be indicative of the potential for its incorporation in cowpea breeding programs. Since some of the morphological characteristics are influenced by environmental conditions, it will be very important to complement this study with a molecular characterization.

**Keywords:** *V. unguiculata* L. Walp.; local varieties; genetic resources; phenotypic characteristics.

## INTRODUÇÃO

O feijão-frade (*Vigna unguiculata* L. Walp.) é uma cultura de Primavera/Verão que pertence à família Leguminosae e é originário de África (Ba *et al.*, 2004). Na Europa, é cultivado pelo menos desde o século VIII a.C. (Coulibaly *et al.*, 2002; Tosti e Negri, 2002). Nos séculos XVI e XVII, foi introduzido pelos portugueses e pelos espanhóis no continente americano (Fang *et al.*, 2007; Badiane *et al.*, 2012). No quinquénio 2009-2013, a produção mundial de feijão-frade foi de 26,1x10<sup>6</sup> t, sendo 95,4% proveniente do continente africano. Neste período, o maior produtor mundial foi a Nigéria com 3,4x10<sup>6</sup> t tendo sido o Níger o 2º maior produtor com 1,4 x10<sup>6</sup> t. A produção na União Europeia (UE), no mesmo período, foi de apenas 2,5x10<sup>3</sup> t, o que mostra o grande défice da UE (FAOSTAT, 2016). O feijão-frade é usado preferencialmente na alimentação humana, podendo também ser utilizado na alimentação animal. Na alimentação humana, o produto mais utilizado é o grão seco (Singh *et al.*, 2003).

A tolerância do feijão-frade a solos de baixa fertilidade e a sua adaptação a altas temperaturas e a baixos regimes hídricos, sendo mesmo apontada por alguns autores como uma das culturas mais tolerantes à seca comparativamente a outras leguminosas (Hall, 2004; Agbidoco *et al.*, 2009), fazem desta leguminosa de grão uma cultura importante nos países do sul da Europa, nomeadamente em Portugal. A capacidade que o feijão-frade tem de estabelecer simbiose com o rizóbio e com fungos micorrízicos permite uma redução, ou mesmo, a não aplicação de adubos inorgânicos azotados, tornando-se assim uma cultura ambientalmente mais sustentável e restauradora da fertilidade do solo (Kwapata e Hall, 1985; Timko *et al.*, 2007). Outra característica do feijão-frade é o seu elevado valor nutritivo. O grão seco é rico em proteína (23% a 32% de proteína total) e contém aminoácidos essenciais como a lisina (427 mg.g<sup>-1</sup> N) e o triptofano (68 mg.g<sup>-1</sup> N). No entanto, tem um baixo teor em aminoácidos com enxofre (Singh, 2002; Timko *et al.*, 2007). Atendendo a estas características, o feijão-frade e os cereais complementam-se em termos de aminoácidos e, consequentemente, uma dieta com ambos fornece uma ingestão equilibrada em proteína.

O melhoramento de plantas tem como finalidade obter cultivares mais produtivas, mantendo a sustentabilidade dos ecossistemas agrícolas. Para que o melhoramento de plantas possa tirar partido dos recursos genéticos é fundamental a sua caracterização. Nos últimos anos têm sido desenvolvidos vários estudos sobre a caracterização morfológica e agronómica de feijão-frade (Adewale *et al.*, 2011; Cardona-Ayala *et al.*, 2013; Stoilova e Pereira, 2013; Egbadzor *et al.*, 2014). As variedades locais antigas foram evoluindo ao longo do tempo através da interação entre o Homem/agricultor e o meio ambiente, tendo sido selecionadas para dar uma melhor resposta às necessidades e às preferências do Homem e às condições agroambientais em que eram cultivadas. Tendo como base as variedades locais antigas, que ainda preservam elevada variabilidade genética, será possível estabelecer uma estratégia de melhoramento do feijão-frade com o objetivo de obter variedades mais produtivas, com tolerância à seca e a altas temperaturas. A implementação desses programas de melhoramento revela-se de grande importância, não só para Portugal, mas também para a UE, que é altamente deficitária em leguminosas de grão. Com vista a selecionar os acessos de feijão-frade portugueses com características mais interessantes para serem integrados em futuros programas de melhoramento foi objetivo deste trabalho caracterizar uma coleção de acessos de feijão-frade através de parâmetros agro-morfológicos.

## MATERIAL E MÉTODOS

Um ensaio constituído por 27 acessos portugueses de feijão-frade (*V. unguiculata* ssp. *unguiculata*) de diferentes regiões de Portugal e por cinco testemunhas - a variedade portuguesa Fradel e quatro acessos espanhóis - (Quadro 1) foi instalado na Quinta dos Prados da Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro (41°17'08"N, 7°44'29"E, 465m), em 2014. Os acessos de feijão-frade são provenientes de missões de colheita realizadas pela Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro (UTAD) e pelo Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária (INIAV)/Elvas no ano de 2013. A variedade Fradel foi cedida pelo INIAV/Elvas e os acessos espanhóis pelo Departamento de Ciência e Tecnologia Agrária da Universidade

**Quadro 1** - Lista dos acessos de feijão-frade caracterizados e local de colheita

Código	Local de colheita			
	Povoação	Latitude	Longitude	Altitude (m)
Ac1	Ansião, Leiria	40.00.288N	8.27.043W	198
Ac2	Évora	38.33.529N	7.56.286W	258
Ac3	São Lourenço, Estremoz	38.50.107N	7.35.254W	382
Ac5	Lardosa, Castelo Branco	39.59.114N	7.26.398W	402
Ac6	Lardosa, Castelo Branco	39.59.114N	7.26.398W	402
Ac7	Lardosa, Castelo Branco	39.59.114N	7.26.398W	402
Ac8	Sertã	39.48.029N	8.06.035W	226
Ac9	Mosteiro, Mértola	37.47.158N	7.43.329W	160
Ac10	Ribeira da Margem, Gavião	39.27.588N	7.56.143W	281
Ac11	Alvega, Abrantes	39.27.530N	8.02.448W	45
Ac12	Lampreia, Abrantes	39.26.410N	8.00.181W	88
Ac13	Barreiras, Ponte Sor	39.16.223N	8.00.449W	119
Ac14	Almeida	40.35.595N	6.53.595W	794
Ac15	Figueira Castelo Rodrigo	40.48.041N	6.56.594W	663
Ac16	Pinhel	40.51.154N	7.08.224W	523
Ac17	Meda	40.50.585N	7.15.163W	580
Ac18	Trancoso	40.48.451N	7.23.260W	770
Ac19	Macedo de Cavaleiros	41.44.383N	7.38.575W	673
Ac20	Penamacor	40.17.07N	7.07.20W	607
Ac21	Fundão	40.14.572N	7.17.227W	507
Ac22	Sabugal	40.22.009N	7.15.325W	1514
Ac23	Covilhã	40.17.521N	7.22.016W	511
Ac24	Covilhã	40.14.434N	7.35.351W	555
Ac25	Alijó	41.19.253N	7.28.046W	766
Ac26	Vila Flor	41.17.529N	7.05.532W	247
Ac27	Mogadouro	41.16.571N	6.35.060W	726
Ac28	Macedo de Cavaleiros	41.27.195N	7.00.306W	750
Ac4	Fradel Cultivar portuguesa			
Ac29	Granada, Espanha	37.00.35N	00.30.0262W	1082
Ac30	Málaga, Espanha	Desconhecida	Desconhecida	Desconhecida
Ac31	Málaga, Espanha	36.36.51N	00.50.853W	769
Ac32	Málaga, Espanha	36.37.37N	00.51.011W	622

**Quadro 2** - Temperaturas e precipitação ocorridas nos meses de maio a setembro de 2014 e no período 1981-2010

Ano/Período	Meses	Temperatura (°C)			Precipitação (mm)
		Mínima	Máxima	Média	
2014	maio	8,8	21,6	14,8	28,5
1981-2010		9,4	20,4	14,9	70,7
2014	junho	11,9	24,4	17,5	26,5
1981-2010		12,8	25,5	19,2	33,7
2014	julho	14,5	27,8	20,6	29,3
1981-2010		14,3	28,2	21,3	15,1
2014	agosto	14,2	27,9	20,3	0,4
1981-2010		14,8	28,6	21,7	26,5
2014	setembro	13,6	24,0	17,8	89,3
1981-2010		12,6	24,4	18,5	54,8

Politécnica de Cartagena (Espanha). De cada acesso foram semeadas 20 plantas repartidas por dois blocos casualizados. A distância entre linhas foi de 0,75 m e entre plantas na linha de 0,25 m, sendo a área de cada talhão de 1,875 m<sup>2</sup>. A sementeira realizou-se na segunda semana de maio num cambissolo dístrico de xisto, de textura média, com pH (KCl) 4,0, 1,3 % de matéria orgânica, 91,0 mg kg<sup>-1</sup> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> e 158,0 mg Kg<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>O. As temperaturas mínimas, máximas e médias e a precipitação total verificadas no período de maio a setembro de 2014, registados no local do ensaio, e no período 1981-2010 encontram-se no Quadro 2.

Para os parâmetros qualitativos - hábito de crescimento, forma do folíolo terminal, cor da flor, da semente e do hilo, e forma da semente - e para os quantitativos - número de dias ao início da floração (presença de pelo menos uma flor aberta), à floração (presença de flor em 50% das plantas) e ao fim da floração (término da floração em 50% das plantas) - foi registado, e de acordo com os descritores do ex-IBPGR, apenas o valor médio correspondente ao conjunto das plantas dos dois blocos de cada um dos acessos. Para os parâmetros quantitativos - altura da planta (desde o solo até à extremidade de maior ramificação) e da inserção da primeira vagem, número de vagens e de sementes por planta, peso das sementes por planta e de 100 sementes, determinados a 12% de humidade, e produção de semente, foram

caracterizadas 15 plantas de cada um dos acessos; para o parâmetro peso de 100 sementes foram realizadas duas amostragens do total de semente produzido por cada acesso (descritores ex-IBPGR); a produção de cada acesso foi avaliada por bloco. O teor em proteína foi calculado multiplicando o teor em azoto, determinado pelo método de Kjeldahl (AOAC, 1990), por 6,25. Devido à limitada quantidade de semente fez-se uma única determinação do teor de proteína por acesso.

#### *Análise estatística dos dados*

Para os parâmetros qualitativos foram determinadas frequências e para os parâmetros quantitativos foram calculados valores mínimos, máximos, médios, desvios-padrão e coeficientes de variação, o valor de F e a heritabilidade, exceto para os dados relacionados com a floração e o teor em proteína. A heritabilidade foi calculada como a relação entre a variância genotípica e a variância fenotípica. O tratamento destes dados quantitativos e as correlações de *Pearson* foram feitas com o programa SPSS versão 8.0. Para a análise em componentes principais (ACP) e para a construção do dendrograma, pelo método UPGMA, foram usados os parâmetros altura da planta, altura da inserção da 1ª vagem, número de vagens e sementes por planta, peso das sementes por planta, peso de 100 sementes, produção e o teor em proteína. Estas análises foram efetuadas com o programa MVSP versão 3.22.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A diversidade genética é um pré-requisito para o melhoramento de plantas e obtenção de novas variedades. A utilização racional da diversidade genética presente numa coleção de germoplasma requer a sua caracterização por parâmetros morfológicos e agronômicos.

No período em que decorreu a caracterização desta coleção a temperatura foi semelhante à registada no período 1981-2010 mas para a precipitação já se registaram diferenças acentuadas particularmente nos meses de agosto e de setembro (Quadro 2). De notar que dos 89,3 mm de precipitação ocorridos em setembro de 2014, 73,6 mm foram registados entre os dias 11 a 20 enquanto no período de 1981 a 2010 apenas foram registados 54,8 mm ao longo de todo o mês. Esta elevada precipitação e a sua distribuição ao longo do mês levou a que a produção de sementes tenha sido inferior à esperada.

Nesta caracterização foi encontrada uma elevada variabilidade para os parâmetros em estudo. Os parâmetros qualitativos são considerados os mais relevantes para identificar

uma determinada cultivar uma vez que são, na generalidade, controlados geneticamente e por isso independentes do ambiente (Kumar e Misra, 2013). Os acessos avaliados apresentaram um hábito ereto, exceto o acesso Ac1 de Ansião que apresentou um hábito semi-ereto. As plantas com flores brancas (87,50%), semente de cor creme (84,38%), com hilo preto (46,88%) e reniformes (59,37%) foram as predominantes. Quanto ao folíolo terminal, as formas sub-sagitada e globosa foram as mais frequentes com 46,88% e 40,62%, respetivamente (Quadro 3). De salientar que para os consumidores as características cor da semente e do hilo, a textura e o tamanho da semente são as mais relevantes (Mustapha e Singh, 2008; Stoilova e Pereira, 2013). As sementes com cor creme e com hilo preto foram as predominantes nos acessos em estudo e são as preferidas pelos consumidores portugueses. Esta preferência, que se regista a nível nacional, pode ser explicada pelo facto de a água de cozedura não ficar tão escura quando comparada com a cor da água de cozedura de feijão-frade de outras cores como, por exemplo, de cor castanha ou preta e por ligações históricas e culturais. Negri *et al.* (2000) estudaram uma coleção de variedades antigas italianas e encontraram uma

**Quadro 3** - Percentagens para seis parâmetros qualitativos na coleção de 32 acessos de feijão-frade

Parâmetros qualitativos		Percentagem
Hábito de crescimento	Ereto	96,87
	Semi-ereto	3,13
Forma do folíolo terminal	Globosa	40,62
	Sub-globosa	12,50
	Sub-sagitada	46,88
Cor da flor	Branca	87,50
	Lilás	12,50
Cor da semente	Bege	9,38
	Creme	84,38
	Castanho	6,25
Cor do hilo	Sem hilo	9,38
	Verde	9,38
	Castanho	6,25
	Castanho-escuro	28,11
	Preto	46,88
Forma da semente	Oval	9,38
	Globosa	12,50
	Romboide	18,75
	Reniforme	59,37

grande variabilidade para a cor da semente. Esta variabilidade foi observada não só entre amostras de diferentes regiões mas também entre amostras do mesmo local. Egbadzor *et al.* (2014), numa coleção de acessos do Gana também encontraram em variedades locais uma grande diversidade para a cor da semente. Esta variabilidade pode ser devida ao gosto dos agricultores locais, que está associado às características organolépticas de cada um dos tipos de feijão-frade, e a tradições históricas e culturais.

O início da floração (presença de pelo menos uma flor aberta) e o fim da floração (término da floração

em 50% das plantas) ocorreram, em média, 78 e 126 dias após a sementeira, respetivamente, correspondendo a um período médio de floração de 48 dias. De entre os acessos portugueses, os acessos Ac7 de Lardosa e Ac8 da Sertã foram os mais precoces (floriram 77 dias após a sementeira) enquanto o acesso Ac5, também de Lardosa, foi o mais tardio (floriu 112 dias após a sementeira). No entanto, no conjunto dos acessos avaliados, a testemunha Ac32 de Málaga foi o acesso mais tardio (com floração 119 dias após a sementeira) (Quadro 4). O acesso Ac2 (Évora) apresentou o período de floração mais curto (24 dias) e o Ac28 (Macedo de Cavaleiros) o mais longo (67 dias) (Quadro 4). O

**Quadro 4** - Número de dias relacionados com a floração na coleção de 32 acessos de feijão-frade

Acessos	Início da floração	Floração	Fim da floração
Ac1	70	95	105
Ac2	81	95	105
Ac3	77	95	112
Ac4	77	112	133
Ac5	81	95	123
Ac6	70	77	112
Ac7	74	77	119
Ac8	70	91	119
Ac9	74	97	137
Ac10	74	105	130
Ac11	74	81	112
Ac12	74	109	123
Ac13	77	109	137
Ac14	88	105	137
Ac15	70	105	133
Ac16	81	109	123
Ac17	74	102	126
Ac18	70	105	119
Ac19	77	102	133
Ac20	70	84	130
Ac21	74	105	123
Ac22	74	81	109
Ac23	77	91	133
Ac24	70	81	105
Ac25	74	91	109
Ac26	70	81	109
Ac27	74	102	130
Ac28	70	91	137
Ac29	97	112	154
Ac30	109	116	158
Ac31	102	112	140
Ac32	105	119	154

início da floração tem vindo a ser considerado um parâmetro importante na seleção de génotipos para o melhoramento de feijão-frade (Silva *et al.*, 2014). Silva *et al.* (2014) referem que o início da floração e a produção de sementes estão negativamente correlacionados. No entanto, acessos com uma floração precoce e um período de floração mais curto poderão ser os mais interessantes uma vez que existe maior suscetibilidade à seca na fase de floração do que durante a fase vegetativa (Hamidou *et al.*, 2007; Stoilova e Pereira, 2013).

Os parâmetros quantitativos são influenciados pelas condições climáticas e pelo solo. Para sete dos parâmetros quantitativos determinou-se o valor mínimo e máximo, a média, o desvio-padrão, o coeficiente de variação e a heritabilidade. A análise de variância revelou existirem diferenças significativas, ao nível de 1%, entre os acessos de feijão-frade para quatro de sete parâmetros quantitativos (Quadro 5). O número de vagens/planta e peso de sementes/planta foram os parâmetros que apresentaram os valores de F mais elevados.

O teor de proteína total variou entre 24,34% (Ac24 de Covilhã) e 29,51% (Ac31 testemunha de Málaga), apresentando o conjunto dos acessos uma média de 26,87%. O acesso Ac3 (Estremoz) apresentou a maior produção de semente (186,11 g.m<sup>-2</sup>) enquanto o acesso Ac9 (Mértola) teve a menor produção (40,96 g.m<sup>-2</sup>), tendo sido a produção média de 100,76 g.m<sup>-2</sup>.

A heritabilidade reflete a variabilidade genética que é transmitida pelos progenitores para a descendência (Mishra e Singh, 2014). Este parâmetro é muito importante uma vez que indica até que ponto o melhoramento poderá alterar uma característica através da seleção dos progenitores (Robinson *et al.*, 1949; Mishra e Singh, 2014). Uma elevada heritabilidade por si só não é suficiente para realizar uma seleção eficiente nas gerações avançadas, mas quando acompanhada de uma quantidade substancial de herança genética pode ser muito informativa (Johnson *et al.*, 1955; Mishra e Singh, 2014). Os parâmetros que apresentaram maior heritabilidade foram a altura da planta ( $h^2=0,69$ ), número de sementes por planta ( $h^2=0,44$ ) e a produção ( $h^2=0,46$ ) (Quadro 5).

Na agricultura moderna, uma das características mais importantes é a altura de inserção da

primeira vagem. Plantas com um porte mais compacto e com uma maior altura de inserção da primeira vagem, são mais desejadas pois permitem o aumento da densidade de plantação, facilitam a colheita mecânica e favorecem a qualidade das sementes. Uma altura reduzida de inserção das vagens pode afetar quer a produção de grão quer a sua qualidade devido ao apodrecimento das vagens provocado pelo seu contacto com o solo. Uma correlação positiva entre a altura de inserção da primeira vagem e a produção de grãos foi observada por Silva *et al.* (2014). Nesta coleção de acessos de feijão-frade a altura de inserção da primeira vagem variou entre 18,57 cm (Ac22 de Abrantes) e 55,50 cm (Ac12 de Sabugal), com uma média de 30,21 cm. Outra característica para a qual se verificou elevada variabilidade foi o número de vagens por planta que teve uma amplitude entre 8,08 (Ac9 de Mértola) e 31,50 (Ac5 de Castelo Branco), com uma média de 16,44.

Uma análise de correlação entre os parâmetros quantitativos foi estabelecida através do coeficiente de *Pearson* (Quadro 6). O número de vagens mostrou estar correlacionado, ao nível de 1%, com o peso de sementes por planta e com a produção ( $r = 0,677$  e  $0,599$ , respetivamente), o que nos permite inferir que a seleção para o aumento do número de vagens por planta favorece o peso total das sementes produzidas por planta e a produção. Estes resultados confirmam os obtidos por Mohammed *et al.* (2009), Stoilova e Pereira (2013) e Silva *et al.*, (2014) que referem que um dos componentes mais importantes para a produção de semente é o número de vagens por planta. A altura da planta esteve correlacionada, de uma forma negativa, com o número de vagens por planta ( $r = -0,107$ ;  $P < 0,05$ ), o que revela que a seleção para uma maior altura da planta pode conduzir à diminuição do número de vagens na planta.

O dendrograma (Figura 1) elaborado com base nos parâmetros quantitativos agrupou os 32 acessos em três *clusters*. O *cluster* I é constituído por três acessos, sendo dois do Alentejo (Ac2 de Évora e Ac3 de São Lourenço) e uma das testemunhas de Málaga (Ac31). No *cluster* II encontram-se nove acessos, dos quais cinco são dos distritos de Castelo Branco e Portalegre (Ac5, Ac6, Ac7, Ac8 e Ac10), e a variedade Fradel obtida pelo INIAV/Elvas (Ac4). De notar que a variedade Fradel (Ac4) se encontra

**Quadro 5** - Valores médios obtidos para cada um dos 32 acessos de feijão-frade em sete parâmetros quantitativos com a respectiva média, desvio-padrão, coeficiente de variação, heritabilidade, valor de F e teste de Tukey (para um nível de significância de 0,05)

Acessos	API (cm)	AVag (cm)	NVag/Pl	NSem/Pl	PSem/Pl (g)	100Sem (g)	Prod (g.m <sup>-2</sup> )
AC1	28,00	31,08	16,50	49,40	23,35	29,45	74,75
AC2	140,75	40,17	22,00	156,83	44,07	26,55	141,01
AC3	57,42	31,33	19,92	110,83	48,01	26,20	153,65
AC4	48,25	22,75	16,58	97,50	28,35	25,50	90,72
AC5	32,42	24,46	31,50	194,58	31,80	11,80	101,79
AC6	86,50	28,17	18,25	101,25	29,93	22,20	95,79
AC7	51,00	25,67	20,17	130,08	29,88	18,20	95,41
AC8	54,17	28,33	18,50	108,08	29,02	21,40	92,88
AC9	44,58	27,92	8,08	26,50	12,80	26,75	40,96
AC10	67,83	27,25	20,08	94,41	29,25	20,10	93,60
AC11	94,17	25,67	15,17	85,91	21,78	21,00	69,71
AC12	51,75	55,50	11,58	41,08	22,12	19,55	70,80
AC13	54,42	26,58	13,92	49,91	20,67	19,10	66,16
AC14	124,67	30,33	12,33	50,67	21,85	28,75	69,92
AC15	104,67	30,33	12,92	66,25	21,74	26,45	69,57
AC16	47,67	24,42	12,67	48,67	16,35	24,85	52,34
AC17	105,17	25,42	18,08	93,00	29,88	28,45	95,66
AC18	84,92	28,08	17,67	94,97	21,22	20,10	67,92
AC19	89,50	29,08	12,08	51,92	20,69	21,80	66,21
AC20	37,00	26,00	12,58	40,17	18,40	19,20	58,91
AC21	35,58	24,25	16,50	35,92	16,09	16,15	51,49
AC22	35,42	18,57	15,25	68,00	23,47	18,15	75,12
AC23	44,67	27,25	14,25	39,50	16,43	14,50	52,58
AC24	41,20	24,25	18,33	110,92	30,90	20,25	98,88
AC25	82,17	25,00	11,75	43,75	21,34	28,90	68,29
AC26	131,08	21,50	8,31	40,58	15,42	30,85	49,36
AC27	91,50	25,33	13,92	67,67	21,84	24,45	69,90
AC28	113,42	28,42	18,83	129,75	31,72	20,95	101,52
AC29	136,00	33,42	11,58	75,92	17,70	20,65	56,67
AC30	106,00	38,33	15,72	107,25	23,79	14,90	76,13
AC31	107,83	42,33	30,67	267,17	41,49	14,35	132,77
AC32	129,58	45,83	22,83	142,92	26,55	13,55	84,96
Média	79,59	30,21	16,44	88,17	25,63	21,71	80,79
s	37,34	7,82	5,26	51,77	8,31	5,49	30,94
CV (%)	47	26	32	59	32	25	38
h <sup>2</sup>	0,69	0,35	0,29	0,44	0,20	0,10	0,46
F	0,789 <sup>NS</sup>	2,292 <sup>**</sup>	2,921 <sup>**</sup>	0,526 <sup>NS</sup>	2,593 <sup>**</sup>	0,014 <sup>NS</sup>	1,845 <sup>**</sup>
Tukey <sub>0,05</sub>	46,534	12,603	11,239	67,308	21,087	0,670	57,394

(API – altura da planta; AVag – altura de inserção da 1ª vagem; NVag/Pl – número de vagens por planta; NSem/Pl – número de sementes por planta; PSem/Pl – peso de sementes por planta; 100Sem – peso de 100 sementes; Prod – produção; s – desvio padrão; CV – coeficiente de variação; h<sup>2</sup> – heritabilidade; NS – não significativo ao nível de 5%; \*\* significativo ao nível de 1%)



**Quadro 6** - Matriz de correlação de Pearson entre os parâmetros quantitativos utilizados para a caracterização da coleção de 32 acessos de feijão-frade

	Altura da planta	Altura da inserção da 1ª vagem	Nº de vagens/planta	Peso de sementes/planta	Nº de sementes/planta	Produção
Altura da planta	1					
Altura da inserção da 1ª vagem	0,362**	1				
Nº de vagens/planta	-0,107*	0,023	1			
Peso de sementes/planta	-0,008	0,083	0,677**	1		
Nº de sementes/planta	0,139**	0,126**	0,405**	0,344**	1	
Produção	0,108	0,198*	0,599**	0,672**	0,445**	1

\* Significativo ao nível 5%; \*\* Significativo ao nível 1%

**Quadro 7** - Associação de coeficientes e vetores com os dois eixos da análise de componentes principais

	Eixo 1	Eixo 2
Eigenvalues	19438,96	1450,368
Percentagem	88,574	6,609
Percentagem acumulada	88,574	95,183
	Coeficiente dos vetores	
	Eixo 1	Eixo 2
Altura da planta	0,062	0,869
Altura da inserção da 1ª vagem	0,014	0,052
Nº de vagens/planta	0,03	0,017
Nº de sementes/planta	0,29	0,452
Peso de sementes/planta	0,059	-0,006
Peso de 100 sementes	-0,001	-0,013
Produção	0,953	-0,195
Proteína	0,001	0,002

próxima de acessos relativamente próximos em termos geográficos, como é o caso do Ac8 de Sertã, Ac10 de Gavião, Ac6 e Ac7 de Castelo Branco. O *cluster* III pode ser dividido em dois *sub-clusters*: *sub-cluster* III.1, apenas com o acesso Ac9 de Mértola e *sub-cluster* III.2 que inclui os restantes 19 acessos. No conjunto dos 32 acessos não se verificou relação entre os agrupamentos e a origem geográfica dos mesmos. Dos três acessos espanhóis de Málaga utilizados como testemunhas, os acessos Ac30 e

Ac32 encontram-se próximos, ambos no *cluster* III, enquanto o acesso Ac31 se encontra no *cluster* I.

A análise de componentes principais (PCA) (Figura 2) é concordante com o dendrograma. Na distribuição dos acessos pelos eixos 1 e 2 é visível a formação de três grupos principais coincidentes com os três *clusters* evidenciados no dendrograma e dentro do grupo III da PCA, é possível confirmar o distanciamento do acesso de Mértola (Ac9),



## CONCLUSÕES

A coleção de acessos portugueses de feijão-frade caracterizada demonstrou possuir uma grande variabilidade para a maioria dos parâmetros avaliados. Alguns dos parâmetros, nomeadamente a altura da planta, número de sementes por planta e produção, apresentaram uma elevada heritabilidade. A grande variabilidade encontrada, conjuntamente com os altos valores para a heritabilidade, demonstram que alguns dos acessos desta coleção poderão vir a ser incorporados em programas de melhoramento com vista à obtenção de novas cultivares, quer através de uma seleção em massa quer através de seleção genealógica. Uma vez que algumas das características morfológicas são influenciadas pelo ambiente, esta caracterização dever-se-á repetir mais um ou dois anos e ser complementada por uma caracterização molecular.

## AGRADECIMENTOS

Este trabalho foi financiado pelo 7º Programa Quadro para a investigação, desenvolvimento tecnológico e demonstração da União Europeia, no âmbito do projeto EUROLEGUME - GA 613781, e por Fundos Europeus de Investimento através do FEDER/COMPETE/POCI - Programa de Competitividade e Internacionalização, no âmbito do projeto POCI-01-0145-FEDER-006958 e Fundos Nacionais através da FCT – Fundação para a Ciência e a Tecnologia no âmbito do projeto UID/AGR/04033/2013. Os autores agradecem à Engenheira Graça Pereira (Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária /Elvas) e ao Prof. Doutor Marcos Egea-Cortines do Instituto de Biotecnologia Vegetal da Universidade Politécnica de Cartagena, pela cedência de material biológico.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adewale, B.D.; Adeige, O.O. & Aremu, C.O. (2011) - Genetic distance and diversity among some Cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.) genotypes. *International Journal of Research in Plant Science*, vol. 1, n. 2, p. 9-14.
- Agbidoco, E.M.; Fatokun, C.A.; Muranaka, S.; Visser, R.G.F. & Linden vanDer, C.G. (2009) - Breeding drought tolerant cowpea: Constraints, accomplishments, and future prospects. *Euphytica*, vol. 167, n. 3, p. 353-370. <http://dx.doi.org/10.1007/s10681-009-9893-8>
- AOAC (1990) - *Official Methods of Analysis*. 15th ed. Association Official Analytical Chemists. Arlington, USA, 1230 p.
- Ba, F.S.; Pasquet, R.S. & Gepts, P. (2004) - Genetic diversity in cowpea [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] as revealed by RAPD markers. *Genetic Resources and Crop Evolution*, vol. 51, n. 5, p. 539-550. <http://dx.doi.org/10.1023/B:GRES.0000024158.83190.4e>
- Badiane, F.A.; Gowda, B.S.; Cissé, N.; Diouf, D.; Sadio, O. & Timko, M.P. (2012) - Genetic relationship of cowpea (*Vigna unguiculata*) varieties from Senegal based on SSR markers. *Genetic Molecular Research*, vol. 11, n. 1, p. 292-304. <http://dx.doi.org/10.4238/2012.February.8.4>
- Cardona-Ayala, C.E.; Araméndiz-Tais, H. & Jarma-Orozco, A. (2013) - Genetic variability in cowpea beans lines (*Vigna unguiculata* L. Walp.). *Agronomía*, vol. 21, n. 2, p. 7-18.
- Coulibaly, S.; Pasquet, R.S.; Papa, R. & Gepts, P. (2002) - AFLP analysis of the phenetic organization and genetic diversity of *Vigna unguiculata* L. Walp. Reveals extensive gene flow between wild and domesticated types. *Theoretical and Applied Genetics*, vol. 104, n. 2, p. 358-366. <http://dx.doi.org/10.1007/s001220100740>
- Egbadzor, K.F.; Danquah, E.Y.; Ofori, K.; Yeboah, M. & Offei, S.K. (2014) - Diversity in 118 cowpea [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] accessions assessed with 16 morphological traits. *International Journal of Plant Breeding and Genetics*, vol. 8, n. 1, p. 13-24. <http://dx.doi.org/10.3923/ijpb.2014.13.24>
- Fang, J.; Chao, C.C.T.; Roberts, P.A. & Ehlers, J.D. (2007) - Genetic diversity of cowpea [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] in four West African and USA breeding programs as determined by AFLP analysis. *Genetic Resources and Crop Evolution*, vol. 54, n. 6, p. 1197-1209. <http://dx.doi.org/10.1007/s10722-006-9101-9>
- FAOSTAT (2016) – Food and Agriculture Organization of the United Nations. [cit. 2016.11.08] <<http://faostat.fao.org>>.
- Hall, A.E. (2004) - Breeding for adaptation to drought and heat in cowpea. *European Journal of Agronomy*, vol. 21, n. 4, p. 447-454. <http://dx.doi.org/10.1016/j.eja.2004.07.005>
- Hamidou, F.; Zombre G. & Braconnier S. (2007) - Physiological and biochemical responses of cowpea genotypes to water stress under glasshouse and field conditions. *Journal of Agronomy and Crop Science*, vol. 193, n. 4, p. 229-237. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1439-037X.2007.00253.x>

- IBPGR (1983) - *Descriptors for cowpea*. International Board for Plant Genetic Resources, Roma.
- Johnson, H.W.; Robinson, H.F. & Comstock, R.E. (1955) – Estimates of genetic and environmental variability in soybean. *Agronomy Journal*, vol. 47, p. 274-318.
- Kumar, S. & Misra, M.N. (2007) - Study on genetic variability, heritability and genetic advance in populations in Indian mustard (*Brassica juncea* L. Czern & Coss.). *International Journal of Plant Sciences*, vol. 2, n. 1, p. 188–190.
- Kwapata, M.B. & Hall, A.E. (1985) - Effects of moisture regime and phosphorus on mycorrhizal infection, nutrient uptake and growth of cowpeas (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.). *Field Crops Research*, vol. 12, n. 3, p. 241-250. [http://dx.doi.org/10.1016/0378-4290\(85\)90072-3](http://dx.doi.org/10.1016/0378-4290(85)90072-3)
- Mishra, P. & Singh, O.P. (2014) – Genetic variability, heritability, genetic advance, correlation coefficient and path analysis in gladiolus. *IOSR Journal of Agriculture and Veterinary Sciences*, vol. 7, n. 7, p. 23-26.
- Mohammed, M.S.; Russom, Z. e Abdul, S.D. (2009) - Inheritance of hairiness and pod shattering, heritability and correlation studies in crosses between cultivated cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) and its wild (var. *pubescens*) relative. *Euphytica*, vol. 171, n. 3, p. 397-407. <http://dx.doi.org/10.1007/s10681-009-0058-6>
- Mustapha, Y. & Singh, B.B. (2008) – Inheritance of pod colour in cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.). *Science World Journal*, vol. 3, n. 2, p. 39-42.
- Negri, V.; Tosti, N.; Falcinelli, M & Veronesi, F. (2000) - Characterisation of thirteen cowpea landraces from Umbria (Italy). Strategy for their conservation and promotion. *Genetic Resources and Crop Evolution*, vol. 47, n. 2, p.141–146. <http://dx.doi.org/10.1023/A:1008714108583>
- Robinson, H.F.; Comstock, R.E. & Harvey, P.H. (1949) – Estimates of heritability and the degree of dominance in corn. *Agronomy Journal*, vol. 41, p. 353-359.
- Silva, A.C.; Morais, O.M.; Santos, J.L.; d’Arede, L.O.; Silva, C.J. & Rocha, M.M. (2014) – Estimativa de parâmetros genéticos em *Vigna unguiculata*. *Revista de Ciências Agrárias*, vol. 37, n. 4, p. 399-407.
- Singh, B.B. (2002) - Recent genetic studies in cowpea. In: Fatokun, C.A.; Tarawali, S.A.; Singh, B.B.; Kormawa, P.M. & Tamo, M. (Eds.) - *Challenges and opportunities for enhancing sustainable cowpea production*. International Institute of Tropical Agriculture, Ibadan, p. 3-13.
- Singh, B.B.; Ajeigbe, H.A.; Tawali, S.A.; Fernandez-Rivera, S. & Abubakar, M. (2003) - Improving the production and utilization of cowpea as food and fodder. *Field Crops Research*, vol. 84, n. 1-2, p. 169-177. [http://dx.doi.org/10.1016/S0378-4290\(03\)00148-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0378-4290(03)00148-5)
- Stoilova, T. & Pereira, G. (2013) - Assessment of the genetic diversity in a germplasm collection of cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) using morphological traits. *African Journal of Agricultural Research*, vol. 8, n. 2, p. 208-215. <http://dx.doi.org/10.5897/AJAR12.1633>
- Timko, M.P.; Ehlers, J.D. & Roberts, P.A. (2007) - Cowpea. In: Kole C. (Ed) - *Pulses, sugar and tuber crops. Theoretical and applied genetics, genome mapping and molecular breeding in plants* (vol. 3). Berlin, Springer, p. 49-67.
- Tosti, N. & Negri, V. (2002) - Efficiency of three PCR-based markers in assessing genetic variation among cowpea (*Vigna unguiculata* subsp. *unguiculata*) landraces. *Genome*, vol. 45, n. 2, p. 268-275. <http://dx.doi.org/10.1139/g01-146>