



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA**  
**FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

**Caracterização morfoagronômica, nutricional e seleção para  
resistência a *Fusarium oxysporum* f. sp. *lentis* (gene *Fw*) em  
germoplasma de lentilha**

**FABIANA RODRIGUES CARDOSO**

**TESE DE DOUTORADO EM AGRONOMIA**

**BRASÍLIA-DF**  
**JULHO/2021**



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA  
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

**Caracterização morfoagronômica, nutricional e seleção para  
resistência a *Fusarium oxysporum* f. sp. *lentis* (gene *Fw*) em  
germoplasma de lentilha**

**FABIANA RODRIGUES CARDOSO**

**ORIENTADOR: Dr. Warley Marcos Nascimento**

**TESE DE DOUTORADO EM AGRONOMIA**

**BRASÍLIA-DF  
JULHO/2021**



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA**  
**FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

**Caracterização morfoagronômica, nutricional e seleção para  
resistência a *Fusarium oxysporum* f. sp. *lentis* (gene *Fw*) em  
germoplasma de lentilha**

**FABIANA RODRIGUES CARDOSO**

TESE DE DOUTORADO SUBMETIDA AO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO  
EM AGRONOMIA, COMO PARTE DOS REQUISITOS NECESSÁRIOS À  
OBTENÇÃO DO GRAU DE DOUTORA EM AGRONOMIA.

APROVADA POR:

---

WARLEY MARCOS NASCIMENTO, PhD (Orientador)  
Embrapa Hortaliças/Universidade de Brasília – Faculdade de Agronomia e Medicina  
Veterinária  
E-mail: [warley.nascimento@embrapa.br](mailto:warley.nascimento@embrapa.br)

---

LEONARDO SILVA BOITEUX, PhD (Examinador externo)  
Embrapa Hortaliças  
E-mail: [leonardo.boiteux@embrapa.br](mailto:leonardo.boiteux@embrapa.br)

---

PATRÍCIA PEREIRA DA SILVA, Dra. (Examinador interno)  
Universidade de Brasília – Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária  
E-mail: [patricia.pereira@colaborador.embrapa.br](mailto:patricia.pereira@colaborador.embrapa.br)

---

RICARDO CARMONA, PhD (Examinador interno)  
Universidade de Brasília – Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária  
E-mail: [rcarmona@unb.br](mailto:rcarmona@unb.br)

**BRASÍLIA-DF**  
**JULHO/2021**

## FICHA CATALOGRÁFICA

Cardoso, Fabiana Rodrigues

Caracterização morfoagronômica, nutricional e seleção para resistência a *Fusarium oxysporum* f. sp. *lentis* (gene *Fw*) em germoplasma de lentilha

Orientação: Warley Marcos Nascimento – Brasília, 2021.

96f.: il.

Tese de Doutorado (D) – Universidade de Brasília/Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, 2021.

1. *Lens culinaris* Medik. 2. Descritores morfoagronômicos. 3. Potencial agrônômico. 4. Teores nutricionais. 5. Resistência genética. 6. *Fusarium oxysporum* f. sp. *lentis*.

## REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

CARDOSO, F.R. **Caracterização morfoagronômica, nutricional e seleção para resistência a *Fusarium oxysporum* f. sp. *lentis* (gene *Fw*) em germoplasma de lentilha.** Brasília: Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, 2021, 93f. Tese de Doutorado.

## CESSÃO DE DIREITOS

NOME DO AUTOR: Fabiana Rodrigues Cardoso

TÍTULO DA TESE DE DOUTORADO: Caracterização morfoagronômica, seleção para resistência a *Fusarium oxysporum* f. sp. *lentis* (gene *Fw*) em germoplasma de lentilha.

GRAU: Doutora ANO: 2021

É concedida à Universidade de Brasília permissão para reproduzir cópias desta tese de doutorado única e exclusivamente para propósitos acadêmicos e científicos. A autora reserva para si os outros direitos autorais de publicação. Nenhuma parte desta tese de doutorado pode ser reproduzida sem autorização por escrito da autora. Citações são estimuladas, desde que citada a fonte.

---

Fabiana Rodrigues Cardoso

E-mail: fabianarc Cardoso@yahoo.com.br

*Aos meus pais,  
pelo exemplo de vida simples, regado de carinho e  
amor incondicional.*  
**OFEREÇO**

*Ao meu companheiro Elvis e  
às minhas filhas, Eleonora e Aurora,  
por tudo que representam na minha vida.*  
*Todo meu amor!*  
**DEDICO**

## AGRADECIMENTOS

Ao meu Deus grandioso, pela força proporcionada ao longo dessa jornada, sobretudo na superação dos medos, desafios e acontecimentos que, por muitas vezes, me faziam pensar em desistir. A Ele toda honra e toda glória! Minha gratidão!

À Agência Goiana de Defesa Agropecuária, pela concessão desse aperfeiçoamento profissional, especialmente ao meu chefe imediato, Augusto Amaral Rocha.

À Universidade de Brasília e ao Departamento de Pós-Graduação em Agronomia, pela oportunidade de realizar o curso de doutorado, e a todos os professores, pelos ensinamentos e aprimoramento da minha formação acadêmica.

À Embrapa Hortaliças, pela infraestrutura de trabalho e pelo apoio recebido.

À equipe de gestão dos laboratórios de análises de sementes, solos, pós-colheita e melhoramento genético, pelo suporte técnico.

Ao Dr. Warley Marcos Nascimento, por sua paciência, sua orientação, seus ensinamentos e suas sugestões para a realização deste trabalho.

Ao Dr. Jairo Vidal Vieira, pela coorientação, pelas valiosas sugestões e por todo o apoio recebido durante a realização deste trabalho.

À Dra. Patrícia Pereira da Silva, exemplo de dedicação à pesquisa, pelo incentivo, pela amizade, pelas sugestões e pelo apoio para a realização e melhoria deste trabalho.

À Dra. Caroline Rodrigues Cardoso, minha irmã e amiga, pela revisão do texto final desta tese e pelo incentivo e amor incondicional.

Aos Dr. Marçal, Dr. Agnaldo, Dr. Juscimar, Dra. Maria Esther Boiteux, Dr. Leonardo Boiteux, Dra. Nara, Dra. Mirtes, Dr. Miguel, Dra. Cláudia, Dra. Sabrina, por sugestões para a execução e melhoria do trabalho, além das conversas de incentivo para seguir em frente.

Aos grandes amigos pesquisadores: Lemerson Oliveira Brasileiro, Carlos Francisco Ragassi e Raphael Augusto de Castro e Melo, pela colaboração efetiva na concretização deste trabalho, pelas reuniões, discussões, sugestões, pela amizade e pelo incentivo, meu sincero agradecimento.

Aos colegas estagiários e aos funcionários da Embrapa Hortaliças pelo auxílio na condução dos trabalhos de campo e laboratoriais, além da agradável convivência.

A todos que contribuíram de alguma forma para o êxito deste trabalho.

# CARACTERIZAÇÃO MORFOAGRONÔMICA, NUTRICIONAL E SELEÇÃO PARA RESISTÊNCIA A *Fusarium oxysporum* f. sp. *lentis* (GENE *Fw*) EM GERMOPLASMA DE LENTILHA.

## RESUMO GERAL

A lentilha (*Lens culinaris* Medik; família Fabaceae) é uma leguminosa importante no cenário agrícola mundial, estando entre as principais culturas do grupo “pulses”. A lentilha é uma importante fonte alimentar, rica em proteínas, carboidratos, micronutrientes e vitaminas. No Brasil, a lentilha é muito apreciada por uma parte da população na forma de sopas, saladas, brotos, petiscos e na mistura com arroz e pão. O consumo interno de lentilhas é suprido por importações, com valores anuais da ordem de US\$ 13,3 milhões. O mercado interno tende a se expandir devido à demanda por lentilhas e outras leguminosas de grãos secos por países emergentes como a Índia. Além disso, a constante associação das lentilhas com uma série de atributos de alta qualidade alimentar pode contribuir para a expansão interna do consumo. A região do Brasil Central apresenta excelentes condições para o cultivo de leguminosas, inclusive lentilhas. No entanto, poucos e consistentes estudos de melhoramento genético da espécie foram realizados no Brasil. Assim, para impulsionar as pesquisas com esta cultura, o presente trabalho teve como objetivo avaliar as características morfoagronômicas e nutricionais, bem como a resistência a doenças em 48 acessos de lentilhas do International Center for Agricultural Research in Dry Areas e na cultivar comercial ‘Silvina’ a partir de experimentos realizados na Embrapa Hortaliças no Distrito Federal. A caracterização dos aspectos morfoagronômicos foi estudada em experimentos de campo, em delineamento de blocos casualizados, com duas repetições em 2017 e três repetições em 2018, ambas com 200 plantas por parcela. Foram utilizados 21 descritores morfoagronômicos (nove qualitativos e 12 quantitativos) que evidenciaram a existência de variabilidade genética entre os genótipos estudados. A composição centesimal e mineral também foi estudada de acordo com a Association of Official Analytical Chemists em experimento realizado no laboratório de nutrição de solos e plantas e no laboratório de ciência e tecnologia de alimentos. Variações foram observadas para os teores de proteína (20,79-34,68%), carboidratos (7,33-8,19 g / 100 g), gordura (0,04-1,99 g / 100 g), umidade (6,66-12,24%) e cinzas (0,97-1,11%), sendo o teor de gordura o componente com maiores variações entre os acessos. Para minerais, houve variações (mg / 100 g) para P (298,66–575), K (655,04–1068,37), Mg (83,09–99,76), S (135,90–231,56), Ca (50,53–119,03), Zn (4,51–7,59), Fe (3,26–10,79), Mn (1,44–3,76), B (0,34–1,90), Mo (0,19–0,67) e Cu (0,17–0,82), com B e Mn sendo os micronutrientes mais variáveis entre os acessos de lentilha. Resistência ao fungo *Fusarium oxysporum* f. sp. *lentis* em experimento realizado no laboratório de melhoramento genético. Para tanto, os marcadores moleculares RAPD OPK-15<sub>900</sub> e o microsatélite SSR 59-2 ligados ao locus *Fw* foram utilizados em ensaios de PCR. A resistência ou suscetibilidade foi corroborada pela visualização dos amplicons de DNA correspondentes em um gel de agarose. Vinte e três acessos de lentilha apresentaram padrões eletroforéticos que os caracterizam como resistentes; 13 linhagens endogâmicas e a cultivar ‘Silvina’ exibiram padrões eletroforéticos associados à suscetibilidade. Portanto, foi possível identificar no presente trabalho genitores potenciais para serem usados em programas de melhoramento genético de lentilhas para condições brasileiras, incluindo fontes de resistência preempta a *F. oxysporum* f. sp. *lentis*

**Palavras-chave:** *Lens culinaris* Medik., descritores morfoagronômicos, potencial agrônomo, teores nutricionais, resistência genética, *Fusarium oxysporum* f. sp. *lentis*

# MORPHOAGRONOMIC, NUTRITIONAL CHARACTERIZATION AND SELECTION FOR RESISTANCE TO *Fusarium oxysporum* f. sp. *lentis* (GENE *Fw*) IN LENTIL GERMPLAM.

## GENERAL ABSTRACT

The lentil (*Lens culinaris* Medik.; Fabaceae family) is a major legume in the world agricultural scenario, being among the main pulse crops. Lentil is an important food source, rich in proteins, carbohydrates, micronutrients and vitamins. In Brazil, lentils are highly appreciated in the form of soups, salads, sprouts, snacks and mixed with rice and bread. The internal consumption of lentils is supplied by imports, with annual values in the order of US\$ 13.3 million. The domestic market tends to expand due to the demand for lentils and other dry grain legumes by emerging countries such as India. In addition, the constant association of lentils with a series of high food quality attributes can contribute to the internal expansion in consumption. The Central Brazil region presents excellent conditions for the cultivation of pulses, including lentils. However, few and consistent studies of genetic improvement of the species have been carried out in Brazil. Thus, to boost research with this crop, the present work aimed to evaluate morphoagronomic and nutritional characteristics, as well as disease resistance in 48 lentil strains from the International Center for Agricultural Research in Dry Areas and in the commercial cultivar 'Silvina' from experiments carried out at Embrapa Hortaliças in the Federal District. The characterization of morphoagronomic aspects was studied in field experiments, in a randomized block design, with two replications in 2017 and three replications in 2018, both with 200 plants per plot. Twenty-one morphoagronomic descriptors were used (nine qualitative and 12 quantitative) which showed the existence of genetic variability among the studied genotypes. The proximate and mineral composition was also studied according to the Association of Official Analytical Chemists in an experiment conducted in the soil and plant nutrition laboratory and in the food science and technology laboratory. Variations were observed for protein contents (20.79–34.68 %), carbohydrates (7.33–8.19 g/100 g), fat (0.04–1.99 g/100 g), moisture (6.66–12.24 %) and ash (0.97–1.11 %), with the fat content being the component with greatest variations among accessions. For minerals, there were variations (mg/100 g) for P (298.66–575), K (655.04–1068.37), Mg (83.09–99.76), S (135.90–231.56), Ca (50.53–119.03), Zn (4.51–7.59), Fe (3.26–10.79), Mn (1.44–3.76), Bo (0.34–1.90), Mo (0.19–0.67) and Cu (0.17–0.82), with B and Mn being the most variable micronutrients among the lentil accessions. Resistance to the fungus *Fusarium oxysporum* f. sp. *lentis* in an experiment carried out in the genetic improvement laboratory. For this purpose, the molecular markers RAPD OPK-15<sub>900</sub> and the microsatellite SSR 59-2 in linkage with the *Fw* locus were used in PCR assays. Resistance or susceptibility was corroborated by visualization of the corresponding DNA amplicons on an agarose gel. Twenty-three lentil accessions displayed electrophoretic patterns that characterize them as resistant; 13 inbred lines and the cultivar 'Silvina' displayed electrophoretic patterns associated with susceptibility. Therefore, it was possible to identify in the present work potential breeding parents to be used in lentil genetic improvement programs for Brazilian conditions, including preemptive resistance sources to *F. oxysporum* f. sp. *lentis*

**Keywords:** *Lens culinaris* Medik., morpho-agronomic descriptors, agronomic potential, nutritional contents, genetic resistance, *Fusarium oxysporum* f. sp. *lentis*

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO GERAL</b> .....	11
<b>2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	14
2.1 Produção e consumo de lentilha .....	14
2.2 Composição química e mineral da semente de lentilha.....	15
2.3 Descrição morfológica da lentilha.....	18
2.4 Melhoramento genético da lentilha no Brasil.....	19
2.5 Caracterização morfoagronômica de germoplasma de lentilha.....	22
2.6 Divergência genética em germoplasma de lentilha.....	23
Referências.....	25
<b>3 CARACTERIZAÇÃO MORFOAGRONÔMICA E DIVERGÊNCIA GENÉTICA EM GENÓTIPOS DE LENTILHA</b> .....	33
Resumo.....	33
Abstract .....	33
3.1 Introdução.....	34
3.2 Materiais e Métodos .....	35
3.2.1 Genótipos, ambiente e delineamento experimental.....	35
3.2.2 Caracterização morfoagronômica.....	38
3.2.3 Análise de agrupamento .....	40
3.2.4 Análise estatística .....	41
3.2.5 Divergência genética .....	41
3.3 Resultados e Discussão.....	41
3.3.1 Características qualitativas .....	41
3.3.2 Características quantitativas .....	42
3.3.3 Divergência genética .....	49
Conclusão.....	51
Referências.....	54
<b>4 COMPOSIÇÃO CENTESIMAL E CONTEÚDO MINERAL NA SELEÇÃO DE GENÓTIPOS DE LENTILHA</b> .....	57
Resumo.....	57
Abstract .....	58
4.1 Introdução.....	59
4.2 Materiais e Métodos .....	60
4.2.1 Composição centesimal .....	60

4.2.2 Composição mineral.....	62
4.2.3 Análise estatística.....	64
4.3 Resultados e Discussão.....	64
4.3.1 Composição centesimal.....	64
4.3.2 Teores de minerais.....	69
Conclusão.....	76
Referências.....	76
<b>5 MELHORAMENTO GENÉTICO PREVENTIVO DE LENTILHA NO BRASIL VIA SELEÇÃO ASSISTIDA POR MARCADORES MOLECULARES LIGADOS AO LOCUS <i>F<sub>w</sub></i> DE RESISTÊNCIA AO <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lentis</i> .....</b>	<b>81</b>
Resumo.....	81
Abstract.....	82
5.1 Introdução.....	83
5.2 Materiais e Métodos.....	85
5.2.1 Material genético.....	85
5.2.2 Genotipagem de acessos de lentilha para marcadores moleculares ligados ao fator de resistência <i>F<sub>w</sub></i> .....	85
5.3 Resultados e Discussão.....	87
Conclusão.....	92
Referências.....	92
<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>95</b>

## 1 INTRODUÇÃO GERAL

Evidências recentes mostram que a lentilha (*Lens culinaris* Medik.) pode contribuir no enfrentamento dos desafios globais, com destaque para a agricultura sustentável e o alcance na segurança alimentar, minimizando problemas de deficiência de minerais, da fome e de doenças crônicas não-transmissíveis (RAWAL *et al.*, 2019; FARIS; TAKRURI; ISSA, 2013).

Devido aos benefícios simbióticos da fixação do nitrogênio atmosférico (RASHEED *et al.*, 2020), a lentilha e outras leguminosas têm sido comumente usadas para diversificar o sistema de cultivo de oleaginosas, constituindo em uma alternativa de rotação ou sucessão aos cereais (VIEIRA; LIMA, 2016). As sementes da lentilha apresentam elevado teor nutricional, cozimento rápido (~10 minutos) (THAVARAJAH *et al.*, 2016) e podem ser consumidas na forma inteira, descascadas e divididas (NOSWORTHY *et al.*, 2017). Cascas secas, folhas e caules podem ser usados como alimentos para o gado (LARDY *et al.*, 2015). Adicionalmente, apresenta um papel importante na economia, gerando emprego e renda para pequenos agricultores em muitos países em desenvolvimento (DOGRA *et al.*, 2016).

A lentilha é originária do Oriente Médio e atualmente é produzida em mais de 50 países, dos quais se destacam o Canadá e a Índia como os maiores produtores dessa leguminosa. Dados da Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO) apontam que, em 2019, a produção mundial do grão foi de cerca de 5,75 milhões de toneladas em 4,8 milhões de hectares (FAOSTAT, 2019). No Brasil, a produção de lentilha ainda é irrisória, sendo o mercado interno suprido pelas importações, principalmente do Canadá, da Argentina e dos Estados Unidos. Em 2020, o país importou cerca de 21 mil toneladas, o que representou gastos na ordem de US\$ 13,3 milhões (COMEX STAT, 2021).

Existe uma expectativa com relação ao aumento da produção no Brasil, particularmente na região Centro-Oeste, onde essa *pulse* atingiu produtividades médias de 1.200 a 1.600 kg ha<sup>1</sup> em condições experimentais, sob irrigação (GIORDANO; NASCIMENTO, 2009). A semeadura pode ser feita em abril ou maio, e as temperaturas ótimas para germinação e desenvolvimento da cultura situam-se entre 18 e 24 °C (VIEIRA; LIMA 2016). Assim, pelo potencial produtivo demonstrado, condições

climáticas favoráveis e crescente demanda do mercado nacional e internacional, principalmente o asiático, o agronegócio brasileiro tem a possibilidade de consolidar sua produção de lentilha.

Apesar de poucos trabalhos de melhoramento genético de lentilha terem sido realizados no Brasil, duas cultivares, originárias da Argentina e adaptadas às condições edafoclimáticas brasileiras, foram lançadas pela Embrapa (EMBRAPA HORTALIÇAS, 2014). As cultivares ‘Precoz’ e ‘Silvina’ produzem sementes grandes (= tipo macrosperma), revestidas pela coloração verdes e cotilédones amarelos. Esse tipo é o preferido entre consumidores brasileiros (VIEIRA *et al.*, 2001). Mundialmente, lentilhas vermelhas de semente pequena (= tipo microsperma) e cotilédone alaranjado são as mais produzidas e comercializadas, devido à demanda de mercado, principalmente do subcontinente indiano (RAWAL; BANSAL, 2019). No entanto, esse tipo de lentilha ainda não é produzido no Brasil.

O International Center for Agricultural Research in the Dry Areas (ICARDA), detentor da maior coleção de lentilhas do mundo (KUMAR *et al.*, 2013), disponibilizou (via solicitação da Embrapa Hortaliças) acessos dos tipos macro e microsperma, no intuito de ampliar a base genética e retomar o programa de melhoramento dessa espécie no Brasil. No entanto, informações sobre aspectos agronômicos (produtividade, precocidade e colheita mecanizada), nutricionais (conteúdo proteico, vitamínico e elementos anti-nutricionais) e resistência/tolerância a patógenos relacionada a esses acessos não estão disponíveis.

O melhoramento genético tem como objetivo o lançamento de cultivares cada vez mais produtivas, adaptadas e com produtos de melhor qualidade para a alimentação humana. Nesse sentido, fontes de variabilidade genética devem ser sempre identificadas e caracterizadas visando à manutenção de programas de melhoramento e o desenvolvimento de genótipos superiores que atendam as demandas do mercado produtivo e consumidor (CORREA *et al.*, 2012).

Doenças causadas por fungos são as que mais limitam a cultura da lentilha, com destaque para *Fusarium oxysporum* f. sp. *lentis*. Em condições favoráveis, esse fungo pode ocasionar perdas superiores a 50% da produtividade (CHOUDHARY; KUMAR, 2016). No Brasil, não há registro oficial de *F. oxysporum* f. sp. *lentis*, sendo considerada uma praga quarentenária (BRASIL, 2008), o que impede a utilização de ensaios de avaliação da resistência genética no campo ou em casa de vegetação com propágulos do patógeno. Dessa forma, o programa de melhoramento genético preventivo (FERREIRA;

RANGEL, 2015), auxiliado pelo monitoramento de fatores de resistência via marcadores moleculares, se torna uma estratégia imprescindível viabilizando a seleção de genótipos resistentes a doenças que ainda não existem no Brasil, como é o caso da murcha de fusário em lentilha.

Outro aspecto a ser salientado em relação ao cultivo da lentilha é que esta é uma cultura promissora para uso em sistemas de biofortificação (KUMAR *et al.*, 2018). Os altos índices de deficiências em micronutrientes trazem consequências negativas para a saúde, e a introdução de produtos agrícolas biofortificados é uma excelente alternativa para programas de intervenção nutricional, podendo contribuir com a redução de problemas de saúde (RIOS *et al.*, 2009). Estudos mostram que a ingestão de 100 g de lentilhas pode fornecer 41–113 % da ingestão diária recomendada (IDR) de ferro, 40–68 % de zinco e 77–122 % de selênio, por exemplo (KUMAR *et al.*, 2016). Assim, uma estratégia de longo prazo para atenuar a carência de micronutrientes na alimentação é o aumento do valor nutricional das culturas por meio do melhoramento genético, utilizando-se a variabilidade genética disponível em bancos de germoplasmas.

Nesse contexto, o objetivo do presente trabalho foi avaliar características morfoagronômicas, composição nutricional e seleção para resistência a *Fusarium oxysporum* f. sp. *lentis* (gene *Fw*) em 49 acessos (48 linhagens e a cultivar Silvina), identificando os mais promissores para serem utilizados como progenitores em futuros programa de melhoramento da espécie.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Produção e consumo de lentilha

A lentilha (*Lens culinaris* Medik.) apresenta grande destaque na economia mundial gerando emprego e renda nas regiões produtoras (DOGRA *et al.*, 2016). O consumo da lentilha é destaque nos países em desenvolvimento, especialmente na Índia, maior consumidor mundial (FAOSTAT, 2019), provavelmente por causa dos benefícios nutricionais associados e da preferência por proteína vegetal em relação a outras fontes de proteína.

As sementes de lentilha apresentam uma ampla gama de cores de tegumento (verde, castanho, marrom, cinza, branco e preto) e padrões (marmorizado, pontilhado, manchado ou complexo) (VANDENBERG; SLINKARD, 1990). Os cotilédones podem ser amarelos, vermelhos ou verdes. O aproveitamento comercial da lentilha engloba grão inteiro, dividido, descascado ou processado como farinha. Essa variedade de tipos e uso culinários contribui para uma diversidade de sistema de produção e comercialização em todo o mundo (YADAV *et al.*, 2007).

Segundo a Food and Agriculture Organization Corporate Statistical Database – FAOSTAT (2019), a lentilha é cultivada em mais de 50 países, e a produção mundial atingiu 5,7 milhões de toneladas em 2019. O Canadá é considerado o maior produtor, responsável por 2,09 milhões de toneladas. Estima-se que 75% da produção mundial de lentilhas seja do tipo vermelho, 20% tipo verde e 5% marrom e outros tipos (AAFC, 2006).

O comércio internacional de lentilha vermelha do tipo microsperma com cotilédone alaranjado é dominado por Austrália, Canadá e Turquia, enquanto o tipo macrosperma com cotilédones amarelos é liderado principalmente por Canadá e Estados Unidos. Os países do subcontinente indiano e do Oriente Médio são os principais importadores de lentilhas vermelhas e o sul da Europa, o norte da África, a América do Sul e a América Central importam lentilhas verdes do tipo macrosperma. Lentilhas verdes microsperma são exportadas para Marrocos, Grécia, Itália, Egito e México (RAWAL; BANSAL, 2019).

A produção de lentilha no Brasil ainda é irrisória. Em 2017, o país produziu apenas oito toneladas dessa leguminosa (IBGE, 2019). No mesmo período, importou 15 mil toneladas (FAOSTAT, 2019). Em 2020, o país importou do Canadá, dos Estados

Unidos e da Argentina cerca de 21 mil toneladas, o que representou gastos na ordem de US\$ 13,3 milhões (COMEX STAT, 2021). O último registro oficial da produção brasileira indicou a produção de lentilhas no Rio Grande do Sul, em Minas Gerais, no Paraná, na Bahia, em Santa Catarina e em Goiás (IBGE, 2019).

Levando em consideração as variadas condições edafoclimáticas de diferentes regiões, países e continentes, as lentilhas podem ser consideradas como tendo ampla adaptação (STRYDHORST *et al.* 2015). O seu cultivo vai desde a agricultura de subsistência até a mais tecnificada, em regime de sequeiro e irrigado. No Brasil, a lentilha pode ser cultivada em áreas irrigadas, com altitudes acima de 800 m, podendo ser semeada entre abril e maio, e as temperaturas ótimas para germinação e desenvolvimento da cultura situam-se entre 18 e 24 °C (VIEIRA; LIMA 2016).

No entanto, a lentilha apresenta fatores que limitam sua produção como a falta de vigor da plântula, taxa muito alta de queda de flores e baixa fixação da vagem, falta de resistência ao acamamento e exposição a grandes estresses bióticos e abióticos (ERSKINE *et al.*, 2009). A melhoria dessas características agrônômicas, por meio do melhoramento genético, pode estimular o cultivo da espécie.

## **2.2 Composição química e mineral da semente de lentilha**

Do ponto de vista nutricional, a lentilha tem sido considerada uma excelente fonte alimentar (KHAZAEI *et al.*, 2019). Suas sementes contêm altos teores de proteína, carboidratos complexos, micronutrientes essenciais, vitaminas e compostos antioxidantes (KHAZAEI *et al.*, 2017; GRELA *et al.*, 2017; KUMAR *et al.*, 2018). Além disso, a lentilha é reconhecida como um alimento funcional, que promove a redução do risco de doenças cardiovasculares, controle do diabetes, prevenção do câncer, aumento do metabolismo e combate a obesidade e até mesmo à melhoria da digestão (FARIS *et al.*, 2013; TAVARAJAH *et al.*, 2016).

A concentração de proteína na semente da lentilha pode variar de 22 a 31% (IQBAL *et al.*, 2006). Boyle *et al.* (2010), relataram concentrações de proteína em sementes de lentilhas verdes (23,03%) e vermelhas (25,88%) dentro desse intervalo. O valor nutricional da proteína é determinado pela composição de seus aminoácidos. As sementes da lentilha mostram um desequilíbrio entre aminoácidos: apresentando um elevado teor de lisina e limitado teor de cisteína e metionina – aminoácidos que contêm enxofre (S). Por isso, é sugerido o consumo de lentilha em combinação com cereais (que

apresentam tores elevados de cisteína e metionina) visando equilibrar os níveis de aminoácidos essenciais à dieta (SHEWRY; HALFORD, 2002).

Estudos indicam que o conteúdo de proteína em lentilha sofre pouca variação ambiental, ou seja, há baixa interação Genótipo × Ambiente para conteúdo de proteína e aminoácidos (BARULINA, 1930; BHATTY *et al.*, 1976; STODDARD *et al.*, 1993; LIZARAZO *et al.*, 2015). Para Stoddard *et al.* (1993) a capacidade de fixação de nitrogênio das leguminosas torna sua concentração de proteína relativamente estável em todos os ambientes. O teor de proteína na semente é altamente afetado pelo nível de nitrogênio do solo. Em leguminosas, a bactéria *Rhizobium* pode aumentar a porcentagem de proteína na semente (KHAZAEI *et al.*, 2019). Ivanov (1933), relatou grandes diferenças entre teor de proteína nas sementes de plantas de grão-de-bico não inoculadas e inoculadas, 12,6 e 31,2 %, respectivamente. Outros autores relataram que a adubação nitrogenada favoreceu as culturas de trigo e feijão no aumento do conteúdo de proteína nas sementes (ESPINDULA *et al.*, 2010; FIDELIS *et al.*, 2019).

A quantidade de carboidratos (amido, monossacarídeos e oligossacarídeos) nas sementes de lentilha varia de 43,4 a 74,9 g em cada 100 g de matéria seca (HOOVER *et al.*, 2010). É considerado um baixo conteúdo se comparado ao do feijão que, normalmente, contém maiores quantidades de carboidratos entre as leguminosas (HALL *et al.*, 2017). Segundo os mesmos autores, os oligossacarídeos não são digeríveis pelo humano por causa da ligação B-glicosídica que une os monossacarídeos. No entanto as bactérias do cólon podem digeri-los, resultando em flatulências para os indivíduos que não consomem leguminosas regularmente. Para lentilhas vermelhas, por exemplo, a quantidade de oligossacarídeos é considerada baixo (CARLSSON, *et al.*, 1992).

O valor de fibra bruta em sementes cruas de lentilha tem sido relatado como sendo 21,7 g/100 g (FOUAD; REHAB, 2015). Eles observaram que esse teor foi maior (25,4 g/100g) em sementes germinadas corroborando com El Maki *et al.*, (1999) que afirmam que essa variação no conteúdo da fibra pode ser atribuída a processos enzimáticos durante a germinação da semente. O valor energético das sementes de lentilha equivale a 353 kcal a cada 100 g (RYAN, *et al.*, 2007), e o teor de cinzas representa um valor de 3 a 5g a cada 100 g de sementes cruas (SHAHWAR *et al.*, 2017). Segundo Hall *et al.* (2017), o conteúdo de cinzas em leguminosas é muito afetado pelas condições de cultivo e ambiente sendo importante levar em consideração, também, a composição mineral do solo.

Em relação ao conteúdo mineral das sementes de lentilha, é possível encontrar potássio, magnésio, ferro, manganês, zinco, cobre, selênio, cálcio entre outros (KUMAR,

*et al.*, 2018). De forma geral, a composição mineral em leguminosas de grãos secos pode variar de acordo com a cultivar ou o ambiente. Estimativas de herdabilidade para ferro (Fe), zinco (Zn) e selênio (Se) são altas, indicando que é possível desenvolver cultivares de lentilhas com maior capacidade de acumular esses micronutrientes na semente, apesar das influências ambientais (THAVARAJAH, *et al.*, 2009b; THAVARAJAH, *et al.*, 2008). Curiosamente, as lentilhas são muito pobres em ácido fítico, o que permite uma maior absorção de minerais no intestino humano (JOHNSON *et al.*, 2013; THAVARAJAH, *et al.*, 2009a). A biodisponibilidade mineral na lentilha é relativamente alta em comparação com cereais e outras leguminosas devido à presença de altos níveis de promotores de absorção de ferro (por exemplo, ácido ascórbico) e baixos níveis de inibidores de absorção de Fe (por exemplo, ácido fítico, ácido gálico e ácido clorogênico) (JOHNSON, *et al.*, 2013; THAVARAJAH, *et al.*, 2011).

A deficiência de minerais já atinge mais de dois bilhões de pessoas no mundo, sendo a deficiência de ferro (Fe) e zinco (Zn) a mais comum e predominante em países asiáticos, africanos e latino-americanos (JHA; WARKENTIN, 2020). No Brasil, além da deficiência de Fe e Zn, é comum a população apresentar deficiência de vitaminas e de outros minerais essenciais, particularmente vitamina A, B9, D, selênio (Se) e cálcio (Ca), pois não atende à ingestão diária recomendada (IDR) (COZZOLINO, 2007). Como consequência, é possível o surgimento de problemas no sistema imunológico, alterações neurológicas e motoras, entre outras doenças (RUBERT *et al.*, 2017). Uma estratégia que pode auxiliar na prevenção e no combate às deficiências minerais é a introdução de produtos agrícolas biofortificados (RIOS *et al.*, 2009).

O International Centre for Agricultural Research in the Dry Areas (ICARDA) em colaboração com parceiros nacionais em Bangladesh, Índia e Nepal – e o apoio do HarvestPlus, um programa do Consultative Group for International Agricultural Research – CGIAR – tem trabalhado na biofortificação de lentilhas com foco em aumentar o teor de ferro e zinco nas sementes. Em parceria com a Clemson University Pulse Quality and Nutrition Program, o ICARDA selecionou alguns acessos de lentilha enriquecidos de selênio para desenvolver populações de lentilha com alta absorção do micronutriente com o objetivo de liberar novas cultivares de lentilha que produzem sementes com selênio de alta biodisponibilidade (THAVARAJAH *et al.*, 2015). No Brasil, um leque de produtos biofortificados como arroz, feijão, milho, mandioca, batata-doce e trigo já foram disponibilizados (EMBRAPA/REDE BIOFORT, 2021).

### 2.3 Descrição morfológica da lentilha

A lentilha (*Lens culinaris* Medik.) é uma leguminosa que pertence à família Fabaceae. É uma planta herbácea anual, com altura variando entre 15 e 75 cm e hábito de crescimento indeterminado, o que significa que é possível encontrar flores, vagens imaturas e vagens maduras em uma planta ao mesmo tempo. O ciclo cultural, para a maioria das cultivares semeadas no inverno leva entre 120 e 160 dias (SAXENA; HAWTIN, 1981).

A planta de lentilha exibe uma ampla gama de variações morfológicas em ambos os órgãos vegetativos e reprodutivos. Para identificação varietal, inicialmente, a planta foi classificada em dois tipos, de acordo com o tamanho da semente: macrosperma e microsperma (BARULINA, 1930). A autora também levou em consideração altura da planta, tamanho e formato dos folíolos, comprimento, quantidade e cor das flores e, por fim, cor do cotilédone.

No tipo macrosperma, as plantas apresentam sementes grandes entre 6-8 mm de diâmetro, diferentemente do tipo microsperma, em que as sementes são pequenas estando entre 3-8 mm de diâmetro (BARULINA, 1930). Somado a isso, o grupo das sementes macrosperma apresenta massa de 1.000 sementes de 50 g ou mais. As microspermas apresentam massa de 1.000 sementes de 40 g ou menos (VIEIRA; LIMA, 2016).

As sementes de lentilha apresentam germinação hipógea e forma típica de lente biconvexa. O tegumento externo pode ser verde, cinza, marrom, preto ou rosa e, frequentemente apresenta pontuações, manchas ou um padrão marmorizado nas cores verde, cinza, marrom ou preto (MUEHLBAUER *et al.*, 2002). A superfície do tegumento geralmente é lisa, mas, em alguns casos ela pode ser enrugada. O hilo é fino, elíptico e pequeno. Os cotilédones podem ser laranja, amarelos ou verdes, tornando-se amarelados após certo período de armazenamento (MUEHLBAUER *et al.*, 1985).

As ramificações da lentilha podem ser do tipo ereto, semiereto ou prostrado. Essas características podem variar de acordo com o genótipo e, também, por efeito do ambiente. Além disso, a produção de ramos é altamente afetada pela densidade de plantas, diminuindo consideravelmente quando se aumenta a população por unidade de área (NEZAMUDDIN, 1970).

As folhas da lentilha são altamente paripenadas, possuindo de um a dez pares de folíolos. Alguns genótipos podem possuir gavinhas desde o início do desenvolvimento, mas a maioria apresenta gavinha apenas após a floração. As folhas têm uma coloração

que varia do verde-claro ao verde-escuro. As folhas de determinados genótipos podem tornar-se púrpura, devido à produção de antocianina em períodos de inverno muito frio. Esta coloração geralmente desaparece quando as temperaturas sobem durante a primavera. Em alguns casos a coloração púrpura pode ser devida a certa deficiência de nutriente (SAXENA *et al.*, 2009). Os folíolos são opostos ou alternados apresentando forma elíptica, oval ou retangular, com 7 a 25 mm de comprimento e 2 a 7 mm de largura. O número de folíolo varia para diferentes genótipos (MANARA *et al.*, 1992).

A espécie é considerada autógama, com flores que apresentam anteras deiscantes. A polinização ocorre, por sua vez, no momento ou pouco antes da antese, processo este que caracteriza a cleistogamia na espécie (SAXENA, 2009). A abertura da flor ocorre entre 8 e 10 horas e continua até o meio-dia e cada flor permanece aberta por cerca de 16 a 24 horas. No final do segundo dia e no terceiro dia todas as flores abertas fecham completamente e a cor da corola começa a desaparecer (SANDHU; SINGH, 2007). De cada pedúnculo, normalmente origina-se uma a quatro flores. No entanto, em algumas condições podem-se encontrar mais de sete flores por pedúnculo. O estandarte pode ser branco, branco com veias azuis, azul, violeta ou rosa (MUEHLBAUER *et al.*, 1985).

A lentilha possui vagens oblongas, lateralmente comprimidas, com 6 a 20 mm de comprimento e 3,5 a 11 mm de largura, arredondadas a levemente cuneadas na base. Contém uma a duas sementes. O número de vagens por pedúnculo varia de um a quatro, apesar de serem encontrados alguns pedúnculos com mais de sete. Esse número por planta varia consideravelmente com a densidade populacional, bem como com o genótipo. Logo que a vagem aparece, ela é chata e verde. A maior parte da expansão da vagem começa quando inicia o enchimento dos grãos (SAXENA *et al.*, 2009).

A descrição dos estágios de desenvolvimento da lentilha foi feita por Erskine *et al.*, (1990), auxiliando os pesquisadores e produtores sobre o momento preciso de práticas culturais, como, por exemplo, a aplicação de herbicidas e a documentação do estágio de crescimento em que os danos ocorreram como resultado da interferência de fatores bióticos e abióticos.

## **2.4 Melhoramento genético da lentilha no Brasil**

Diversos centros de pesquisas internacionais têm desenvolvido, ao longo dos anos, trabalhos de melhoramento genético de lentilha, sendo os principais responsáveis pela liberação de novas cultivares.

Para o melhoramento genético da lentilha, utilizam-se métodos comuns às plantas autógamias, que incluem a introdução de linhagens e/ou cultivares, a seleção em populações constituídas por uma mistura de linhas puras e o melhoramento por hibridação de duas ou mais linhagens. Notadamente, em um programa não se utiliza de apenas um método, mas sim se faz a interação entre eles (SARKER, *et al.*, 2009).

No Brasil, o método de melhoramento por introdução de linhagens e/ou cultivares tem sido amplamente utilizado em lentilha, conduzido, exclusivamente, por instituição pública como a Embrapa Hortaliças (CNPH) e tem contribuído com avanços na ampliação da base genética do programa. Além disso, esse método pode resultar na disponibilidade imediata de genótipos geneticamente superiores, sendo uma ótima alternativa para culturas em que não existem programas de melhoramento genético ou quando esses programas estão começando (ABREU, 1997). O ICARDA é o maior contribuidor de germoplasma, mediante intercâmbio, sendo responsável pela ampliação das coleções de lentilha da Embrapa Hortaliças. O centro tem o mandato global para pesquisas sobre o melhoramento da lentilha e abriga a coleção mundial que inclui cerca de 14.597 acessos representados por 2.580 linhagens de reprodução, 11.405 *landraces* e 612 acessos de espécies selvagens (GUERRA-GARCÍA *et al.*, 2021). Outras coleções maiores de germoplasma de lentilha foram relatadas pelos mesmos autores.

A pesquisa com a cultura da lentilha na região do Centro-Oeste teve início no ano de 1984. O CNPH, em parceria com a Universidade Federal de Santa Maria, coordenou os trabalhos de melhoramento genético da espécie com objetivo de identificar genótipos adaptados às condições edafoclimáticas regionais e com boa produtividade. O resultado obtido permitiu a identificação e liberação da cultivar ‘Precoz’ (EMBRAPA, 2014), via método de melhoramento “introdução de cultivares”, em acessos oriundos da Argentina. Todavia, a cultivar apresenta grãos de tamanho inferior ao exigido pelo mercado nacional (NASCIMENTO; GIORDANO, 1993).

Em 1987, as buscas continuaram por cultivares melhoradas para a região dos cerrados, com porte alto, adaptadas à colheita mecânica e com grãos maiores que 6 mm resultando na seleção de alguns genótipos promissores. Em 1992, o CNPH conduziu ensaios com linhagens advindas do ICARDA, e, em 1999, foi lançada a cultivar Silvina introduzida da Argentina (EMBRAPA, 2014).

Atualmente, o programa de melhoramento genético da lentilha da Embrapa Hortaliças passou a ter por objetivo a busca por genótipos mais produtivos, que apresentem precocidade (ciclo curto), alto valor nutricional, adaptação à colheita

mecânica e resistência ou tolerância às principais doenças (EMBRAPA, 2021). Também têm sido adotadas ferramentas importantes para o melhoramento genético, como a biotecnologia. Essa estratégia, auxiliada por marcadores moleculares, pode contribuir por exemplo, na identificação de genótipos que apresentem genes de resistência para as principais doenças de importância econômica da cultura. Adicionalmente, pode ser instituído dentro do programa uma linha de melhoramento preventivo, corroborando na seleção de genótipos resistentes a doenças que ainda não existem no Brasil, como é o caso da murcha de fusário.

Segundo Henning e Nepomuceno (2019), o melhoramento preventivo consiste em diferentes etapas. Inicialmente, é realizada a busca de genes de resistência a pragas potenciais em bancos de germoplasma. Num passo seguinte, são realizados cruzamentos entre esses genótipos não melhorados portadores de genes de resistência e uma linhagem elite, que contém características de uma variedade moderna. O passo posterior é selecionar as plantas que adquiriram esses genes de resistência. Para isso, o uso de marcadores moleculares pode ser utilizado, facilitando a introdução desses genes nas variedades modernas. Por fim, as variedades selecionadas são testadas em países nos quais essas pragas quarentenárias já foram identificadas e ocorrem de forma endêmicas.

O fungo de solo *Fusarium oxysporum* f. sp. *lentis*, agente causal da murcha de fusário pode ocasionar, em condições favoráveis, perdas superiores a 50% da produtividade (CHOUDHARY; KUMAR, 2016). No Brasil, não há registro oficial do fungo sendo, assim, considerado uma praga quarentenária (BRASIL, 2008). No entanto, o risco de introdução desse fungo no território nacional é iminente, com potenciais consequências negativas para a competitividade do agronegócio brasileiro de lentilha.

Vários fatores podem favorecer os surtos epidêmicos deste patógeno nas condições brasileiras: (1) potencial avanço das áreas de plantio de lentilha no país; (2) condições climáticas extremamente favoráveis para o desenvolvimento do fungo; (3) ocorrência da doença nos países fronteiriços, tais como Argentina e Uruguai (CHEN *et al.*, 2011) e (4) indisponibilidade de cultivares resistentes adaptadas às condições brasileiras. Além disso, as introduções de germoplasma vegetal (intercâmbio), quando não realizadas de maneira adequada, podem apresentar riscos na introdução e disseminação da doença.

Devido ao fato da murcha de fusário ser ainda uma doença quarentenária, os ensaios de avaliação da resistência genética no campo ou em casa de vegetação, com propágulos do patógeno, são proibidos. Por isso o melhoramento genético preventivo (do inglês =

*preemptive breeding*) deve ser amparado pesquisas conduzidas por instituições internacionais onde a doença já ocorre naturalmente (NETO *et al.*, 2016). Neste cenário, a seleção assistida por marcadores moleculares se torna estratégico para seleção de genótipos que possam apresentar resistência a murcha de fusário em programas de melhoramento conduzidos em países ainda livres da doença.

Diversas fontes de resistência a *F. oxysporum* f. sp. *lentis* já foram relatadas (BAYAA *et al.*, 1995; MOHAMMDI *et al.*, 2012; POURALIBABA *et al.*, 2015; CHOUDHARY & KUMAR, 2016). A herança do controle genético da resistência na linhagem 'ILL 5588' foi caracterizada como sendo monogênica e governada pelo gene dominante *F<sub>w</sub>* (EUJAYL *et al.*, 1998). Marcadores moleculares do tipo RAPD (*Randomly Amplified Polymorphic DNA*) e SSR (*Simple Sequence Repeats*) foram descritos com distâncias de 10.8 cM e 8.0 cM, respectivamente, em relação ao gene *F<sub>w</sub>* (HAMWIEH *et al.*, 2005; EUJAYL *et al.*, 1998). Esses marcadores moleculares, por estarem ligados a esse locus de resistência, podem ser utilizados como ferramentas para identificar o gene *F<sub>w</sub>* dentro de programas de melhoramento preventivo via seleção assistida por marcadores moleculares em lentilha.

## **2.5 Caracterização morfoagronômica de germoplasma de lentilha**

A existência de variabilidade genética é um pré-requisito em qualquer programa de melhoramento genético, aumentando a probabilidade de seleção de genitores superiores. Essa disponibilidade, necessariamente, passa pela introdução, caracterização e seleção de genótipos que são atividades primordiais dentro de um Banco de Germoplasma (BURLE; OLIVEIRA, 2010).

A caracterização do germoplasma consiste na observação, mensuração e documentação de características morfológicas que se expressem em todos os ambientes tais como cores de sementes, caules e flores, bem como padrões para características quantitativas, como época de floração, altura da planta e peso de 1.000 sementes (VICENTE *et al.*, 2005). Quando bem conduzida, a caracterização é capaz de diferenciar acessos, identificar duplicatas, separar os materiais genéticos em classes ou categorias, verificar a variabilidade existente e ainda indicar genótipos mais divergentes (VALLS, 2007). Com todo esse processo é possível preservar de maneira fidedigna a identidade do germoplasma, bem como direcionar o melhorista a uma eficiente utilização do recurso

genético disponível. Contudo, ainda são incipientes os trabalhos de caracterização agronômica do germoplasma de lentilha da Embrapa Hortaliças.

Descritores morfoagronômicos (GAAD *et al.*, 2018), bioquímicos (proteínas e enzimas) (El-NAHAS *et al.*, 2011) e moleculares (KUMAR *et al.*, 2018b) têm sido utilizados para caracterizar coleções de germoplasma de lentilhas. Embora os marcadores moleculares sejam mais sofisticados, os morfológicos são mais acessíveis.

A caracterização morfológica da cultura da lentilha tem por base a lista de descritores morfoagronômicos proposta pelo International Board For Plant Genetic Resources – IBPGR (1985) e a UPOV – International Union for the Protection of New Varieties of Plants (2015), que é utilizada como parâmetro para proteção de cultivares.

Os descritores IBPGR foram divididos em três grupos: identificação do acesso, caracterização e avaliação preliminar (IBPGR, 1985). Já os descritores da UPOV apresentam características agrupadas em: **(1)** quantitativas: tais como hábito de crescimento da planta, altura, intensidade da ramificação, intensidade da cor verde na folha, tamanho do folíolo, número de flores por nó, tamanho da flor, coloração da vagem, número de óvulos na vagem, comprimento da vagem, largura da vagem, peso da semente, tempo de florescimento); **(2)** qualitativas: tais como coloração antocianina, estrias violetas no estandarte das flores e **(3)** pseudo-qualitativas: tais como cor dos cotilédones, formato dos folíolos, coloração do estandarte da flor, cor do revestimento (UPOV, 2015).

Os descritores morfológicos são baseados em caracteres de fácil detecção e mensuração, com pouca influência ambiental no comportamento de genitores e alta herdabilidade, permitindo inferir sobre a divergência genética dos materiais avaliados (BURLE; OLIVEIRA, 2010).

## **2.6 Divergência genética em germoplasma de lentilha**

A divergência genética é de grande relevância para o melhoramento de plantas ao proporcionar importantes contribuições no gerenciamento de bancos de germoplasma e na conservação de recursos genéticos. Refere-se ao nível de heterogeneidade ou nível de variação genética de uma população ou de acessos individuais de uma determinada espécie (ESTOPA, 2003). Por meio desse conhecimento é possível identificar genótipos contrastantes, com características de interesse, por exemplo, fontes de resistência a doenças, alta produtividade etc., a fim de realizar cruzamentos promissores e complementares em programas de melhoramento (CRUZ; CARNEIRO, 2006).

A seleção de genitores com base em características individuais não é tão interessante quanto à seleção baseada em um conjunto de características. Por isso o aumento no uso de técnicas multivariadas para quantificação da divergência genética tem sido verificado já que essas análises permitem considerar simultaneamente inúmeras características (SUDRÉ *et al.*, 2007). Uma das principais técnicas de análise multivariadas é a análise de agrupamento que tem por finalidade reunir, por algum critério de classificação, os indivíduos em grupos, de tal forma que exista a máxima homogeneidade (similaridade) dentro do grupo e a máxima heterogeneidade (dissimilaridade) entre grupos (CRUZ; REGAZZI, 2004). As medidas de similaridade ou de dissimilaridade têm sido muito utilizadas em análise de agrupamento, sendo a escolha entre elas baseadas na preferência e/ou na conveniência do pesquisador (BUSSAD *et al.*, 1990).

Com a definição da medida de dissimilaridade a ser utilizada, a etapa seguinte é a adoção de uma técnica de agrupamento ou de formação dos grupos. Para isso, existe muitos métodos disponíveis, a saber: o método de agrupamento hierárquicos (vizinho mais próximo, vizinho mais distante, Ward, UPGMA - Unweighted Paired Group Method Using Averages) e o método de agrupamento de otimização (Tocher) (CRUZ, REGAZZI, 2004). Pesquisas usando técnicas de análise multivariada como ferramentas no estudo da divergência genética em lentilha foram apresentadas por alguns autores (SOLANKI, 2007; KUMARI *et al.*, 2015; AHAMED *et al.*, 2016; PANDEY; BHATORE, 2018).

## **2.7 Verificação da coerência dos grupos formados pelo dendrograma.**

No presente trabalho optou-se por dois métodos diferentes no agrupamento dos genótipos: o método UPGMA e o Tocher. O método hierárquico UPGMA (Unweighted Pair-Group Method using Arithmetic Averages) utiliza médias aritméticas (não ponderadas) das medidas de dissimilaridade, o que evita caracterizar a dissimilaridade por valores extremos entre os objetos considerados. A construção dos dendrogramas é estabelecida pelos modelos ajustados de menor dissimilaridade (CRUZ *et al.*, 2011). Enquanto o método de otimização de Tocher é um método de agrupamento que se baseia na formação de grupos cujas distâncias dentro dos grupos sejam menores que as distâncias entre grupos. Ao final do processo obtém-se o número de grupos e os acessos contidos em cada grupo (CRUZ; CARNEIRO, 2003).

## Referências

- AAFC – Agriculture and Agri-Food Canada. Lentils: Situation and perspectives. **Agriculture and Agrifood Canada**, Bi-Weekly Bulletin, v. 19, n. 7, p. 6, 2006.
- ABREU, A. de F.B. **Predição do potencial genético de populações segregantes do feijoeiro utilizando genitores inter-raciais**. 1997. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, Minas Gerais, 1997.
- AHAMED, K.U.; AKHTER, B.; ISLAM, M. R.; HUMAUN, M. R.; ALAM, M. J. Morphological characterization and genetic diversity in lentil (*lens culinaris* medikus ssp. *culinaris*) germplasm. **Delhi Business Review**, Rohini, v. 17, 1 ed., p.35-43, 2016.
- BARULINA, H. Lentils of the USSR and other countries. **Bull. Appl. Bot. Genet. Plant Breed.** v. 40, p. 265-304, 1930.
- BHATTY, R.S.; SLINKARD, A.E.; SOSULSKI, F.W. Chemical composition and protein characteristics of lentils. **Can. J. Plant Sci.** v. 56, p. 787–794, 1976.
- BAYAA, B.; ERSKINE, W.; HAMDY, A. Evaluation of a wild lentil collection for resistance to vascular wilt. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 42, p. 231-235, 1995.
- BOYLE, J. L.; AKSAY, S.; ROUFIK, S.; RIBEREAU, S.; MONDOR, M.; MONDOR, M.; FARNWORTH, E.; RAJAMOHAMED, S. H. Comparison of the functional properties of pea, chickpea and lentil protein concentrates processed using ultrafiltration and isoelectric precipitation techniques. **Food Res. Int.**, v. 43, p.537–546, 2010.
- BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO – **Instrução Normativa MAPA 41/2008**, de 1º de julho de 2008. Lista de pragas quarentenárias ausentes e presentes. Brasília: MAPA, 2008. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/sanidade-animal-e-vegetal/sanidade-vegetal/arquivos-quarentena/lista-de-pragas-quarentenarias-ausentes-e-presentes.pdf/view>. Acesso em: 11 maio 2021.
- BURLE, M. L.; OLIVEIRA, M. S. P. **Manual de curadores de germoplasma**. Vegetal: caracterização morfológica. Brasília; Belém: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia; Embrapa Amazônia Oriental, 2010.
- BUSSAD, W. de O. *et al.* Introdução à análise de agrupamentos. São Paulo: **ABE**, 105p, 1990.
- CARLSSON, N.G.; KARLSSON, H.; SANDBERG, A.S. Determination of oligosaccharides in foods, diets, and intestinal contents by high-temperature gas chromatography and gas chromatography/mass spectrometry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 40, n. 12, p. 2404-2412, 1992.
- CHEN, W.; SHARMA, H.C.; MUEHLBAUER, F. J. Compendium of Chickpea and Lentil Diseases and Pests. Minnesota: **American Phytopathological Society Press**, 2011.
- CHOUDHARY, A. K.; KUMAR, S. Genetic improvement for fusarium wilt resistance in lentil. In: SINGH, A. K.; BHAKTA, N.; SANGALE, U.R.; MANIBHUSHAN;

SUNDARAM, P. K.; KUMAR, S.; YASIN, J.K. (eds.). **Scientific Lentil Production**. Nova Deli: Satish Serial Publishing House, p. 59-72, 2016.

COMEX STAT. 2021. **Exportação e importação geral**. Disponível em: <http://comexstat.mdic.gov.br/pt/geral>. Acessado em janeiro 20, 2021.

CORREA, A.M., CECCON, G., CORREA, C.M.A.; DELBEN, D.S. Estimativas de parâmetros genéticos e correlações entre caracteres fenológicos e morfoagronômicos em feijão-caupi. **Revista Ceres**, 59, 88-94, 2012.

COZZOLINO, S. M. F. Deficiência de minerais. **Estudos Avançados**, v. 21, n. 60, p. 119-126, 2007.

CRUZ, C.D., REGAZZI, A.J. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. Viçosa: UFV. 2ª edição revisada, 390p., 2004.

CRUZ, C.D.; CARNEIRO, P.C.S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. 2.ed. Viçosa: UFV, 585p, 2006.

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

DOGRA, A.; SARKAR, A.; SAHA, P; HASSAN, A.W. Livelihood analysis of lentil (*Lens culinaris*) farmers in Chanduali district of Uttar Pradesh. **Indian Journal of Agricultural Sciences**. 86 (7): 884-89(13), 2016.

ESTOPA, R.A. Diversidade genética em populações naturais de Candeia (*Eremanthuserythropappus*). Mac Leish. 43p. Monografia (Graduação em engenharia florestal) – Departamento de Ciências florestais, Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, 2003.

ESPINDULA, M. C.; CAMPANHARO, M.; ROCHA, V. S.; MONNERAT, P.H.; FAVARATO, L.F. Composição mineral de grãos de trigo submetidos a doses de sulfato de amônio e trinexapacetil. **Pesq. Agropec. Trop.**, Goiânia, v. 40, n. 4, p. 513-520, 2010.

EUJAYL, I.; ERSKINE, W.; BAYAA, B., BAUM, M.; PEHU, E. Fusarium vascular wilt in lentil: Inheritance and identification of DNA markers for resistance. **Plant Breeding**, v. 117, n.5, p. 497-499, 1998.

EL MAKI, H. B., BABIKER, E.; EL TINAY, A. H. Changes in chemical composition, grain malting, starch and tannin contents and protein digestibility during germination of sorghum cultivars. **Food Chemistry**, v. 64, n. 3, p.331–336, 1999.

EL NAHAS, AI, ELSHAZLY, HH, AHMED, SM AND OMRAN, AAA. Molecular and biochemical markers in some lentil (*Lens culinaris* Medik.) genotypes. **Annual Agricultural Sciences** 56: 105–112, 2011.

EMBRAPA HORTALIÇAS. **Cultivares da Embrapa Hortaliças (1981-2013)**. Brasília, DF: Embrapa, 2014. p. 80-81.

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Rede BioFORT. Disponível em: <https://www.embrapa.br/biofort>. Acesso em: 24 jun. 2021.

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Lentilha é objeto de

pesquisa de melhoramento genético preventivo contra pragas. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/63394274/lentilha-e-objeto-de-pesquisa-de-melhoramento-genetico-preventivo-contrapragas>. Acesso em: 7 jul. 2021.

ERSKINE, W.; MUEHLBAUER, F.J.; SARKER, A.; SHARMA, B. **The lentil: botany, production and uses**. CAB International, p.1-3, 2009.

ERSKINE, W.; MUEHLBAUER, F.J.; SHORT, R.W. Stages of development in lentil. **Expl Agric.** v. 26, p. 297-302, 1990.

FAOSTAT. 2019. Crop, lentil production in the world. Disponível em: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC/visualize>. Acesso em: 20 jan. 2020.

FARIS, M.A.I.E.; TAKRURI, H.R.; ISSA, A.Y. Role of lentils (*Lens culinaris* L.) in human health and nutrition: a review. **Mediterr J Nutr Metab**, v. 6, p. 3-16, 2013.

FERREIRA, M.E.; RANGEL, P.H.N. Melhoramento genético preventivo: obtenção de estoques genéticos resistentes a pragas quarentenárias de alto risco para a agricultura brasileira. In: SUGAYAMA, R.L.; SILVA, M.L.; SILVA, S.X.B.; RIBEIRO, L.C.; RANGEL, L.E.P. (eds.). **Defesa vegetal: fundamentos, ferramentas, políticas e perspectivas**. Belo Horizonte: Sociedade Brasileira de Defesa Agropecuária, p. 275-292, 2015.

FIDELIS, R. R.; SALGADO, F. H. M.; ALEXANDRINO, C. M. dos S.; TAVARES, T. C. de O.; CAMPESTRINI, R. Determination of protein content in common bean genotypes cultivated in different levels of nitrogen. **Ambiência - Revista do Setor de Ciências Agrárias e Ambientais** v.15 n.1, 2019.

FOUAD, A. A.; REHAB, F. M.A. Effect of germination time on proximate analysis, bioactive compounds and antioxidant activity of lentil (*Lens culinaris* Medik.) sprouts. **Acta Sci. Pol. Technol. Aliment.**, v. 14, p. 233-246, 2015.

GAAD, D; LAOUAR, M.; GABOUN, F.; ABDELGUERFI, A. Collection and agro morphological characterization of Algerian accessions of lentil (*Lens culinaris*) **Biodiversitas**, v. 19, n.1, p. 183-193, 2018.

GIORDANO, L.B; NASCIMENTO, W.M. **Lentilha Silvina – precocidade e sabor**. Brasília: Embrapa Hortaliças (folder), 2009.

GRELA, E.R.; KICZOROWSKA, B.; SAMOLI ŃSKA, W.; MATRAS, J.; KICZOROWSKI, P.; RYBI ŃSKI, W.; HANCZAKOWSKA, E. Chemical composition of leguminous: Part I: Content of basic nutrients, amino acids, phytochemical compounds and antioxidant activity. **Eur. Food Res. Technol.**, v. 243, p. 1385-1395, 2017.

GUERRA-GARCÍA, A.; GIOIA, T.; WETTBWRG, E.V.; LOGOZZO, G.; PAPA, R.; BITOCCHI, E.; BETT, K.E. Intelligent Characterization of Lentil Genetic Resources: Evolutionary History, Genetic Diversity of Germplasm, and the Need for Well-Represented Collections. **Current Protocols**, v. 134, n. 1, p. 1-24, 2021.

HAMWIEH, A.; UDUPA, S. M.; CHOUMANE, W.; SARKER, A.; DREYER, F.; JUNG, C.; BAUM, M. A genetic linkage map of *Lens* sp. based on microsatellite and AFLP markers and the localization of fusarium vascular wilt resistance. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 110, n. 4, p. 669-677, 2005.

HALL, C.; HILLEN, C.; ROBINSON, J.G. Composition, Nutritional Value, and Health Benefits of Pulses. **Cereal Chemistry Journal**, v. 94, n. 1, p. 11-31, 2017.

HENNING, L.; NEPOMUCENO, A. Melhoramento preventivo: uma ferramenta contra as ameaças na agricultura. **SeedNews**, ed. 23, 2019. Disponível em: <https://seednews.com.br/artigos/3046-melhoramento-preventivo-uma-ferramenta-contra-as-ameacas-na-agricultura-edicao-setembro-2019> Acesso: 19 Jul. 2021.

HOOVER, R. *et al.* Composition, molecular structure, properties, and modification of pulse starches: A review. **Food Research International**, v. 43, n. 2, p. 399-413, 2010

IBGE. Censo Agropecuário. Tabela 1618. 2019. Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br/tabela/1618#resultado>. Acesso em: 20 jan. 2020.

IBPGR - International Board for Plant Genetic Resources, Rome, 15p., 1985.

IQBAL, A.; KHALIL, I. A.; ATEEQ, N.; KHAN, M. S. Nutritional quality of important food legumes. **Food Chem**, v. 97, p. 331-335, 2006.

IVANOV, N.N. The causes of chemical variability in the seeds of chickpea in different geographical areas. IN: Monograph of the Genius; Quoted in Van der Maesen, 1972; CICER, L.A., Ed.; **Agriculture University Communication**: Wageningen, The Netherlands, 1933.

JHA, A.B.; WARKENTIN, T.D. Biofortification of Pulse Crops: Status and Future Perspectives. **Plants**, v. 9, n. 73, 2020.

JOHNSON C.R.; THAVARAJAH, D.; THAVARAJAH, P. The influence of phenolic and phytic acid food matrix factors on iron bioavailability potential in 10 commercial lentil genotypes (*Lens culinaris* L.). **Journal of Food Composition and Analysis**. v. 31, n. 1, p. 82-86, 2013.

KHAZAEI, H.; SUBEDI, M.; NICKERSON, M.; MARTÍNEZ-VILLALUENGA, C.; FRIAS, J.; VANDENBERG, A. Seed protein of lentils: Current status, progress, and food applications. **Foods**, v.8, n.9, p. 3-23, 2019.

KHAZAEI, H.; CARON, C.T.; PODDER, R.; KUNDU, S.S.; DIAPARI, M.; VANDENBERG, A.; BETT, K.E. Marker-trait association analysis of iron and zinc concentrations in lentils (*Lens culinaris* Medik.) seeds. **Plant Genome**. v. 10, p. 1-8, 2017.

KUMAR, S.; CHOUDHARY, A.K.; RANA, K.S.; SARKER, A.; SINGH, M. Biofortification potential of global wild annual lentil core collection. **Plos One**, v. 13, n.1, 2018a

KUMAR, J.; GUPTA, D.S.; KUMAR, S.; GUPTA, S.; SINGH, N.P. Current knowledge on genetic biofortification in lentil. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 64, n. 33, p. 6383-6396, 2016.

KUMAR J., SRIVASTVA E.; SINGH M. Genetics of early growth vigour in lentil (*Lens culinaris* Medik.). **J. Genet.**, v. 92, n. 2, p. 323, 2013.

KUMAR, J., GUPTA, S., GUPTA, D.S. *et al.* Identification of QTLs for agronomic traits using association mapping in lentil. **Euphytica**, v. 214, p.75, 2018.

KUMARI, M.; MITTAL, R.K.; CHAHOTA, R.K.; THAKUR, K.; LATA, S.; GRUPTA, D. Genetic diversity analysis of inter sub-specific and intra-specific derivatives of lentil (*Lens Culinaris* Medik.) to understand their potential to widen the genetic base of cultivated lentils based on morpho-physiological and PCR. **Procedia Environmental Sciences**, v. 29, p. 130-131, 2015.

LARDY, G.; ANDERSON, V.; DAHLEN, C. **Alternative feeds for ruminants**. AS-1182 (Revised), NDSU Extension Services. North Dakota State University, Fargo North Dakota 58108, USA, 2015.

LIZARAZO, C.I.; LAMPI, A.M.; LIU, J.; SONTAG-STROHM, T.; PIIRONEN, V.; STODDARD, F.L. Nutritive quality and protein production from grain legumes in a boreal climate. **J. Sci. Food Agric.**, v. 95, p. 2053-2064, 2015.

MANARA, W.; MANARA, N. T. F.; VEIGA, P.; TARRAGO, M. F. S. A cultura da lentilha. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 16, n. 174, p.61-70, 1992.

NETO, L.M.; GALERANI, P.R.; COSTA, J.L.S. Pesquisa, desenvolvimento e inovações em face de ameaças sanitárias para a agropecuária brasileira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 51, n. 05, 2016.

MOHAMMADI, N.; PURALIBABA, H.; GOLTAPPEH, E.M.; AHARI, A. B.; SARDROOD, B.P. Advanced lentil lines screened for resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *lentis* under greenhouse and field conditions. **Phytoparasitica**, v. 40, n. 1, p. 69-76, 2012.

MUEHLBAUER, F.J., CUBERO, J.I. AND SUMMERFIELD, R.J. Lentil (*Lens culinaris* Medik.). In: SUMMERFIELD, R.J. AND ROBERTS, E.I.I. (eds) **Grain Legume Crops**. Collins, London, UK, pp. 266–311, 1985.

MUEHLBAUER, F.J., SUMMERFIELD, R.J., KAISER, W.J., CLEMENT, S.L., BOERBOOM, C.M., WELSH-MADDUX, M.M. and SHORT, R.W. **Principles and Practices of Lentil Production**. United States Department of Agriculture (USDA) Agriculture Research Service (ARS), 2002.

NASCIMENTO, W.N; GIORDANO, L.B. Viabilidade da produção de lentilha no Brasil. **Horticultura Brasileira**, v. 11, n. 1, p. 51-52, 1993.

NEZAMUDDIN, S.; MISCELLANEOUS, MASUR. In: KACHROO, P. (ed.) Pulse Crops of India. **Indian Council of Agricultural Research**, Krishi Bhawan, New Delhi, pp. 306–313, 1970.

NOSWORTHY, M.G.; NEUFELD, J.; FROHLICH, P.; YOUNG, G.; MALCOLMSON, L.; HOUSE, J.D. Determination of protein quality of cooked Canadian legumes. **Food Sci. Nutr.**, v. 5, p. 896-903, 2017.

PANDEY, S.; BHATORE, A. Genetic diversity analysis for quantitative traits in indigenous germplasm of lentil in Madhya Pradesh. **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, v. 7, p. 279-283, 2018.

POURALIBABA, H. R.; RUBIALES, D.; FONDEVILLA, S. Identification of pathotypes in *Fusarium oxysporum* f. sp. *lentis*. **European Journal of Plant Pathology**, v. 144, n. 3, p. 539-549, 2016.

RASHEED, M., T. NASEER, A. HASSAN, F. HASSAN, R. HAYAT, G. JILANI, S.G. VASEER AND M.B. ALI. Isolation of nodule associated bacteria for promotion of lentil growth. **Pakistan Journal of Agricultural Research**, v. 33, n. 1, p. 170-179, 2020.

RAWAL, V.; CHARRONDIERE, R.; XIPSITI, M.; GRANDE, F. Pulses: nutritional benefits and consumption patterns. In: RAWAL, V.; NAVARRO, D.K. (eds.). **The global economy of pulses**. Roma: FAO, p. 9-19, 2019.

RAWAL, V; BANSAL, V. 2019. Lentil: emergence of large-scale, export-oriented production. In: RAWAL, V; NAVARRO, DK (eds). **The global economy of pulses**. Rome, FAO. p.71-85.

RIOS, S.A.; ALVES, K.R.; COSTA, N.M.B.; MARTINO, H.S.D. Biofortificação: culturas enriquecidas com micronutrientes pelo melhoramento genético. **Rev. Ceres**, Viçosa, v. 56, n.6, p. 713-718, nov./dez., 2009.

RUBERT, A.; ENGEL, B.; ROHLFES, A. L. B.; MARQUARDT, L.; MONTE BACCAR, N. Vitaminas do complexo B: Uma breve revisão. **Revista Jovens Pesquisadores**, v. 7, n. 1, p. 30-45, 2017.

RYAN, E., GALVIN, K., O'CONNOR, TP *et al.* Fitoesterol, esqualeno, teor de tocoferol e perfil de ácidos graxos de sementes, grãos e legumes selecionados. **Plant Foods Hum Nutr**, v. 62, p. 85-91, 2007.

SAXENA, M.C. AND HAWTIN, G.C. Morphology and growth patterns. In: WEBB, C. AND HAWTIN, G.C. (eds) Lentils. **Commonwealth Agricultural Bureau**, Slough, UK, p. 39-52, 1981.

SAXENA, M. C. Plant Morphology, Anatomy and Growth Habit. In: ERSKINE, W.; MUEHLBAUER, F. J.; SARKER, A.; SHARMA, B. **The Lentil Botany, Production and Uses**, cap. 4, p. 34-46, 2009.

SANDHU, J. S.; SINGH, S. History and origins. In: YADAV, S.S; McNEIL, D. L.; STEVENSON, P. C (eds). **Lentil: An Ancient Crop for Modern Times**. Springer, Berlin, p. 1-9, 2007.

SARKER, A.; AYDOGAN, A.; CHANDRA, S.; KHARRAT, M.; SABAGHPOUR, S. Genetic Enhancement for Yield and Yield Stability IN: **The Lentil Botany, Production and Uses**. ERSKINE, W.; MUEHLBAUER, F.J.; SARKER, A.; SHARMA, B. (eds), CAB International, p. 102-120, 2009.

SHAHWAR, D; BHAT, TM; ANSARI, MYK; CHAUDHARY, S; ASLAM, R. Health functional compounds of lentil (*Lens culinaris* Medik): A review. **International Journal of Food Properties**, v. 201, p. 1-15, 2017.

SHEWRY, P.R.; HALFORD, N.G. Cereal seed storage proteins: structures, properties and role in grain utilization. **Journal of Experimental Botany**, v. 53, p. 947-958, 2002.

SOLANKI, I.S., YADAV, S.S. AND BAHL, P.S. Varietal adaptation, participatory breeding and plant type. In: YADAV, S.S., MCNEIL, D.L. AND STEVENSON, P.C. (eds) **Lentil: An Ancient Crop for Modern Times**. Springer, Dordrecht, The Netherlands, p. 255-274, 2007.

STRYDHORST, S; OLSON, MA; VASANTHAN, T; McPHEE, KE; McKENZIE, RH; HENRIQUEZ, B; TIEULIE, J; MIDDLETON, A; DUNN, R; PFIFFNER, P; COLES, MB; KRUGER, A; BOWNESS, R; BING, DJ; BEAUCHESNE, D. Adaptability and quality of winter pea and lentil in Alberta. **Agronomy Journal**, v. 107, n. 6, p. 2431-2448, 2015.

STODDARD, F.L.; MARSHALL, D.R.; ALI, S.M. Variability in grain protein concentration of peas and lentils grown in Australia. **Aust. J. Agric. Res.**, v. 44, p. 1415-1419, 1993.

SUDRÉ, C.P. *et al.* Genetic resources of vegetable crops: a survey in the Brazilian germplasm collections pictured through papers published in the journals of the Brazilian Society for Horticultural Science. **Horticultura Brasileira**, v.25, n.4, p.496- 503, 2007.

THAVARAJAH, P.; THAVARAJAH, D.; VANDENBERG, A. Low phytic acid lentils (*Lens culinaris* L.): A potential solution for increased micronutrient bioavailability. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 57, n. 19, p. 9044-9049, 2009.

THAVARAJAH, D.; THAVARAJAH, P.; SARKER, A.; VANDENBERG, A. Lentils (*Lens culinaris* Medikus Subspecies *culinaris*): A whole food for increased iron and zinc intake. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**., v. 57, n. 12, p. 5413-5419, 2009.

THAVARAJAH, D.; RUSZKOWSKI, J.; VANDENBERG, A. High potential for selenium biofortification of lentils (*Lens culinaris* L.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 56, n. 22, p. 10747-10753, 2008.

THAVARAJAH D, THAVARAJAH P, WEJESURIYA A, RUTZKE M, GLAHN RP, COMBS GFJR, VANDENBERG A. The potential of lentil (*Lens culinaris* L.) as a whole food for increased selenium, Lentil (*Lens culinaris* Medikus): A Whole Food Rich in Prebiotic Carbohydrates to Combat Global Obesity, iron, and zinc intake: Preliminary results from a 3-year study. **Euphytica**. v. 180, n. 1, p. 123-128, 2011

THAVARAJAH, D.; THAVARAJAH, P.; JOHNSON, C.R.; KUMAR, S. In: GOYAL, A. (ed.). Lentil (*Lens culinaris* Medikus): a whole food rich in prebiotic carbohydrates to combat global obesity, **Grain legumes**, IntechOpen, 2016.

THAVARAJAH D, THAVARAJAH P, THROUGH L E, GEBHARDT M, LACHER C, KUMAR S, COMBS GF. Will selenium increase lentil (*Lens culinaris* Medik) yield and seed quality? **Frontiers in Plant Science**, v. 6, p. 356, 2015.

UPOV - The International Union for the Protection of New Varieties of Plants. Geneva. **Lentil** (*Lens culinaris* Medik), 2015.

VALLS, J. F. M.; Caracterização de recursos genéticos vegetais. In: NASS, L. L. (Ed.). **Recursos genéticos vegetais**. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, p. 281-305, 2007.

VANDENBERG, A.; SLINKARD, A.E. Genetics of seed coat color and pattern in lentil. **Journal of Heredity**, v. 81, 1990.

VICENTE, M.C., GUZMÁN, F.A., ENGELS, J., RAMANATHA, R.V. Genetic characterization and its use in decision making for the conservation of crop germplasm. In: The role of biotechnology. **Proceedings**, p.121-128, 2005.

VIEIRA RF; VIEIRA C; VIEIRA RF. 2001. **Leguminosas graníferas**. Editora UFV. p.161-168, 2001.

YADAV SS, STEVENSON PC, RIZVI A., MANOHAR M., GAILING S., MATELJAN, G. Uses and Consumption. IN: YADAV S.S; MCNEIL D.L.; STEVENSON P.C. (eds) **Lentil**. Springer, Dordrecht, p. 33-46, 2007.

### 3 CARACTERIZAÇÃO MORFOAGRONÔMICA E DIVERGÊNCIA GENÉTICA EM GENÓTIPOS DE LENTILHA<sup>1</sup>

#### Resumo

A produção de lentilha apresenta tendência de crescimento no Brasil devido a uma forte demanda do mercado nacional e internacional por esta hortaliça leguminosa. Apesar da importância econômica, existem poucas cultivares disponíveis no mercado brasileiro. O objetivo deste estudo foi avaliar 48 genótipos de lentilha e uma cultivar comercial (Silvina), com base em características morfoagronômicas, e identificar genótipos que possam ser empregados no melhoramento genético. Foram utilizados 21 descritores morfoagronômicos (nove qualitativos e doze quantitativos) que evidenciaram a existência de variabilidade genética entre os genótipos estudados. A associação das técnicas de agrupamento com os dados de caracterização possibilitou a identificação de genótipos geneticamente divergentes e, ao mesmo tempo, superiores quanto a características agronômicas: FLIP2010-8L e FLIP2010-12L (grupo de similaridade I), FLIP2010-99L, FLIP2010-20L e FLIP2010-106L (grupo II), FLIP90-25L e 6031 (grupo III), FLIP2007-16L (grupo IV) e a cultivar comercial Silvina (grupo V). Esses genótipos apresentam potencial para serem utilizados em programas de melhoramento genético da espécie.

**Palavras-chave:** *Lens culinaris* Medik., recursos genéticos, variabilidade genética, produtividade.

#### Abstract

Lentil production is growing in Brazil, due to strong national and international demand. Despite the economic importance, few cultivars are available on the Brazilian market. The objective of this study was to evaluate 48 lentil genotypes and one commercial cultivar (Silvina), based on morpho-agronomic characteristics and to identify genotypes that can be employed in a plant breeding program. Twenty-one morpho-agronomic descriptors (nine qualitative and twelve quantitative) were used, which evidenced the genetic variability among the genotypes. The association of clustering techniques with characterization data enabled the identification of superior genotypes in terms of agronomic characteristics clustered in distinct groups of genetic similarity: FLIP2010-8L and FLIP2010-12L (similarity group I), FLIP2010-99L, FLIP2010-20L and FLIP2010-106L (group II), FLIP90-25L and 6031 (group III), FLIP2007-16L (group IV) and the commercial cultivar Silvina (group V). These genotypes have the potential to be used in lentil breeding programs.

**Keywords:** *Lens culinaris* Medik., genetic resources, genetic variability, yield.

---

<sup>1</sup> Publicado na revista **Horticultura Brasileira**, v. 39, n. 2, 2021. <https://doi.org/10.1590/s0102-0536-20210207>

### 3.1 Introdução

A lentilha (*Lens culinaris* Medikus) é uma espécie da família *Fabaceae*, anual, autógama e que desempenha um papel importante na segurança alimentar e nutricional de milhões de pessoas, especialmente em países em desenvolvimento. Seus grãos são nutritivos, ricos em proteínas, carboidratos, micronutrientes e vitaminas (SHAHWAR *et al.*, 2017). A planta apresenta boa capacidade para fixar nitrogênio atmosférico em associação com *Rhizobium* sp. (RASHEED *et al.*, 2020) sendo uma alternativa de rotação ou sucessão para outras culturas de importância econômica, beneficiando, de forma direta, a fertilidade do solo (LIU *et al.*, 2019). Além disso, a lentilha apresenta adaptabilidade climática (STRYDHORST *et al.*, 2015), o que a torna amplamente distribuída no mundo.

Atualmente, o Canadá é o maior produtor e exportador mundial de lentilhas respondendo por 32,8% da produção global da leguminosa. A Índia é o país com a maior área cultivada, sendo responsável por cerca de 25,4% da produção mundial. No entanto, apresenta baixa produtividade das lavouras (731 kg.ha<sup>-1</sup>) em comparação com a produtividade média mundial (1.041 kg.ha<sup>-1</sup>) (FAOSTAT, 2020), o que leva o país a frequentes importações de lentilhas verdes e vermelhas para atender à demanda interna.

No Brasil, a área de produção de lentilha ainda é irrisória e o consumo interno é suprido pelas importações. Em 2019, o país importou cerca de 14,4 mil toneladas na ordem de US\$ 7,7 milhões (COMEX STAT, 2020). No entanto, a espécie é uma excelente opção para o cultivo irrigado de inverno, principalmente na região Centro-Oeste, onde atingiu produtividades médias de 1.200 a 1.600 kg.ha<sup>-1</sup> (NASCIMENTO; GIORDANO, 1993). Com esse alto potencial produtivo comparado à média mundial e aliado à crescente demanda interna e do mercado internacional, principalmente o indiano, o agronegócio brasileiro tem a possibilidade de consolidar a produção dessa hortaliça leguminosa.

A Embrapa Hortaliças indicou para o mercado brasileiro, no ano 1999, a cultivar Silvina, introduzida da Argentina e classificada comercialmente como lentilha verde, semente grande (tipo *macrosperma*) e cotilédone amarelo. É o tipo preferido para o consumo entre os brasileiros. A classe comercial de lentilha vermelha, de semente pequena (tipo *microsperma*) e cotilédone alaranjado, é a mais produzida e comercializada mundialmente. Além disso, apresenta grande demanda no mercado internacional, principalmente nos países do subcontinente indiano (RAWAL; BANSAL, 2019) e nos

países como o Irã, Iraque, Iêmen, Jordânia e Síria. No entanto, esse tipo de lentilha ainda não é produzido no Brasil.

Para que haja a disponibilidade de novas cultivares de lentilhas que atendam a essas demandas faz-se necessário ações eficientes no programa de melhoramento da espécie, o que inclui, inicialmente, a caracterização morfológica e avaliação agrônômica do germoplasma disponível. Essa caracterização consiste em observações (caracteres qualitativos) e mensurações (caracteres quantitativos) realizadas por meio de descritores morfológicos que podem fornecer as primeiras estimativas de variabilidade genética dentro do germoplasma (BURLE; OLIVEIRA, 2010). Aliado a isso, com o uso de técnicas de análise multivariada, baseadas em medidas de dissimilaridade, é possível avaliar, de forma simultânea em relação às várias características, a divergência genética entre os genótipos auxiliando na definição dos melhores cruzamentos.

Nesse contexto, o trabalho objetivou a caracterização morfoagronômica e avaliação da divergência genética de uma coleção de genótipos de lentilha provenientes do *International Center for Agricultural Research in the Dry Areas* (ICARDA), visando à seleção de genótipos superiores que apresentem características comerciais de interesse para futuro uso no programa de melhoramento genético da espécie.

## **3.2 Materiais e Métodos**

### ***3.2.1 Genótipos, ambiente e delineamento experimental***

Os experimentos foram conduzidos no campo experimental da Embrapa Hortaliças, Brasília – DF, (15°56'14.3'S, 48°08'30.8'W, 1000 m de altitude), durante os anos de 2017 e 2018. Segundo a classificação de Köppen (KOTTEK *et al.* 2006), o clima da região é do tipo Aw, com inverno seco. A temperatura durante o ciclo da cultura variou de 27,4 °C a 15,8 °C entre máxima e mínima, respectivamente, em 2017 e entre 27,4 °C e 15,7 °C em 2018. A umidade relativa média dos dois anos foi de 55,6% e a precipitação média de 1,7 mm/dia (INMET, 2018).

Foram avaliados 49 genótipos (48 linhagens de lentilha e a cultivar Silvina) provenientes do International Center for Agricultural Research in the Dry Areas (ICARDA) e do CNPH, tendo por controle a cultivar comercial Silvina (EMBRAPA HORTALIÇAS, 2014) (Tabela 1). O solo da área experimental foi classificado como

latossolo vermelho amarelo distrófico, com as seguintes propriedades químicas na camada de 0-20 cm, referentes a 2017 imediatamente antes da implantação do experimento: pH (água) = 5,2; pH (CaCl<sub>2</sub>) = 5,2; matéria orgânica = 3,0%; P(Mehlich) = 2,9 mg dm<sup>-3</sup>; K (Mehlich) = 191,59 mg dm<sup>-3</sup>; Ca (KCl) = 0,5 cmol<sub>c</sub>dm<sup>-3</sup>; Mg (KCl) = 0,5 cmol<sub>c</sub>dm<sup>-3</sup>; Al (Mehlich) = 0,9 cmol<sub>c</sub>dm<sup>-3</sup>; H+Al (SMP) = 4,3 cmol<sub>c</sub>dm<sup>-3</sup>; Capacidade de Troca de Cátions em pH 7,0 (CTC) = 5,8 cmol<sub>c</sub>dm<sup>-3</sup>; Saturação por Bases (V) = 27%; Saturação por Alumínio (m) = 37%; B (água quente) = 0,03 mg dm<sup>-3</sup>; Cu (Mehlich) = 1,60 mg dm<sup>-3</sup>; Fe (Mehlich) = 84 mg dm<sup>-3</sup>; Mn (Mehlich) = 22,3 mg dm<sup>-3</sup>; Zn (Mehlich) = 1,90 mg dm<sup>-3</sup>; S (Ca(H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>) = 2,6 mg dm<sup>-3</sup>.

O delineamento experimental utilizado foi blocos ao acaso com 49 tratamentos (48 linhagens e a cultivar Silvina), em duas repetições em 2017 e três repetições em 2018. As parcelas foram formadas por uma linha de 4 m, sendo as linhas de plantio espaçadas 0,50 m entre si, totalizando uma área útil de 2,0 m<sup>2</sup> por parcela. As sementes foram realizadas na mesma área em 10 de maio e 24 de maio de 2017 e 2018, respectivamente, após 30 dias da aplicação de 2000 kg ha<sup>-1</sup> de calcário dolomítico (PRNT 80%), em cada um dos anos, baseado no nível de saturação de bases apresentado pela análise química do primeiro ano experimental. Em ambos os experimentos, a adubação de sementeira foi realizada no sulco de plantio, utilizando-se 16 kg ha<sup>-1</sup> de N, 120 kg ha<sup>-1</sup> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> e 64 kg ha<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>O. Não foi feita inoculação das sementes com *Rhizobium* sp. Uma adubação de cobertura foi realizada aos 30 dias após a emergência (DAE) com 100 kg ha<sup>-1</sup> de N (ureia) (Vieira, 2003).

A irrigação foi realizada por aspersão, com uma lâmina bruta diária de 5 mm a 6 mm conforme recomendado por Giordano *et al.* (1988) com maior frequência no período da emergência até o pleno estabelecimento das plantas, sendo suspensa temporariamente em duas fases do ciclo: antes do início do florescimento e ao final do enchimento de grãos. Essa prática é realizada visando estimular a produção de grãos e a maturação, respectivamente (Vieira & Lima 2016). O turno de rega foi determinado de acordo com o equipamento sensor irrigas (tensiômetro 40 Kpa, marca Irrigas®, modelo HID02), instalado em duas profundidades (15 cm e 30 cm) (Marouelli & Calbo 2009).

O controle de plantas daninhas consistiu em capina manual durante todo o ciclo da cultura. Não foram aplicados inseticidas e fungicidas apesar de constatado no experimento insetos-pragas (lagartas, trípes, pulgões, larvas minadoras e percevejos, ambos sem identificação da espécie) e doenças (fungo de solo e oídio).

**Tabela 1** – Identificação, pedigree e origem de 49 genótipos (48 linhagens de lentilha e a cultivar Silvina) provenientes do ICARDA e da Embrapa Hortaliças.

<b>Linhagem</b>	<b>Pedigree</b>	<b>Origem</b>	<b>Linhagem</b>	<b>Pedigree</b>	<b>Origem</b>
81S15	UJL 197 x ILL 4400	JORDÂNIA	FLIP 2009-19L	ILL 5883 x ILL 6994	ICARDA
FLIP 90-25L	ILL 5588 x ILL 99	ICARDA	FLIP 2009-25L	ILL 5883 x ILL 6994	ICARDA
FLIP 2007-11L	ILL 2126 x ILL 1005	ICARDA	FLIP 2009-26L	ILL 5883 x ILL 6994	ICARDA
FLIP 2007-16L	ILL 2126 x ILL 4659	ICARDA	FLIP 2009-27L	ILL 5883 x ILL 6994	ICARDA
FLIP 2007-28L	ILL 590 x ILL 5769	ICARDA	FLIP 2010-2L	ILL 2126 x ILL 4637	ICARDA
FLIP 2007-42L	ILL 7201 x ILL 5728	ICARDA	FLIP 2010-8L	ILL 2126 x ILL 6199	ICARDA
FLIP 2007-74L	ILL 590 x ILL 6434	ICARDA	FLIP 2010-12L	ILL 6199 x ILL 2126	ICARDA
FLIP 2007-75L	ILL 590 x ILL 1005	ICARDA	FLIP 2010-19L	ILL 0590 x ILL 5769	ICARDA
FLIP 2007-77L	ILL 1939 x ILL 8090	ICARDA	FLIP 2010-20L	ILL 0590 x ILL 5769	ICARDA
FLIP 2008-2L	ILL 857 x AKM 362	ICARDA	FLIP 2010-21L	ILL 7012 x ILL 2125	ICARDA
FLIP 2009-1L	ILL 7620 x ILL 7686	ICARDA	FLIP 2010-22L	ILL 7012 x ILL 2125	ICARDA
FLIP 2009-2L	ILL 7620 x ILL 7686	ICARDA	FLIP 2010-23L	ILL 7012 x ILL 2125	ICARDA
FLIP 2009-4L	ILL 6991 x ILL 7686	ICARDA	FLIP 2010-24L	ILL 2126 x ILL 6199	ICARDA
FLIP 2009-5L	ILL 6991 x ILL 7686	ICARDA	FLIP 2010-27L	ILL 6024 x ILL 0098	ICARDA
FLIP 2009-7L	ILL 5883 x ILL 7706	ICARDA	FLIP 2010-28L	ILL 8090 x ILL 6783	ICARDA
FLIP 2009-9L	ILL 7502 x ILL 6994	ICARDA	FLIP 2010-29L	ILL 8090 x ILL 6783	ICARDA
FLIP 2009-10L	ILL 7502 x ILL 6994	ICARDA	FLIP 2010-30L	ILL 8090 x ILL 7685	ICARDA
FLIP 2009-11L	ILL 8077 x ILL 6994	ICARDA	FLIP 2010-31L	ILL 8090 x ILL 7685	ICARDA
FLIP 2009-12L	ILL 8077 x ILL 6994	ICARDA	FLIP 2010-32L	ILL 8090 x ILL 7685	ICARDA
FLIP 2009-13L	ILL 8077 x ILL 6994	ICARDA	FLIP 2010-99L	ILL 7620 x 91517	ICARDA
FLIP 2009-14L	ILL 8077 x ILL 6994	ICARDA	FLIP 2010-100L	ILL 2501 x ILL 5737	ICARDA
FLIP 2009-15L	ILL 6778 x ILL 6994	ICARDA	FLIP 2010-106L	ILL 7723 x ILX 87062	ICARDA
FLIP 2009-16L	ILL 5588 x ILL 7979	ICARDA	SILVINA	-	EMBRAPA - CNPH
FLIP 2009-17L	ILL 5588 x ILL 8188	ICARDA	6031	ILL 101 x ILL 162	ICARDA
FLIP 2009-18L	ILL 5883 x ILL 6994	ICARDA	-	-	-

A colheita de cada genótipo, assim como da cultivar comercial, foi realizada quando as sementes atingiram a maturação plena [13% base úmida (b.u)]. O número total de plantas colhidas (estande final) foi contabilizado na ocasião da colheita e todas as plantas foram colhidas rente ao solo. As plantas marcadas com etiquetas foram colocadas em sacos individuais e as demais em sacos de ráfia devidamente identificados. Todas foram mantidas em sala de pré-secagem, à temperatura de 30° C. Depois de secas, as sementes foram retiradas manualmente. A limpeza das sementes foi efetuada com auxílio de peneiras de tela trançada (diâmetro 25-30 cm) e ventilador. Em seguida as sementes foram acondicionadas em sacos de papel kraft, identificadas e armazenadas em câmara fria à temperatura aproximada de 10-12° C. Foram retiradas três amostras de sementes, de 1,0 g cada, de cada genótipo, para avaliação da umidade por meio do método da estufa a 105±3 °C, por 24 horas, cujo teor de água indicado foi em torno de 6% b.u.

### ***3.2.2 Caracterização morfoagronômica***

A caracterização dos genótipos foi realizada com base em quinze descritores morfológicos indicados pela International Union for the Protection of new Varieties of Plants (UPOV 2015), sendo nove características qualitativas (Tabela 2) e seis características quantitativas (Tabela 3). Adicionalmente, foram coletadas informações sobre as seguintes características quantitativas: altura da inserção da primeira vagem, número de vagens por planta, número de sementes por planta, rendimento de sementes por planta, produtividade e duração do ciclo (Tabela 3)

**Tabela 2.** Descritores morfológicos (qualitativos) aplicados na caracterização de 49 genótipos (48 linhagens de lentilha e a cultivar Silvina) provenientes do ICARDA e da Embrapa Hortaliças.

<b>Descritores</b>	<b>Métodos de avaliação</b>	<b>Classificação</b>	
Hábito de crescimento	Observado o padrão da ramificação e registrado após a floração.	Ereto .....	1
		Semiereto .....	3
		Prostrado .....	5
Antocianina	Observado na base do caule aos 45 dias após emergência.	Ausente .....	1
		Presente .....	9
Intensidade da ramificação	Avaliada quando todas as plantas da parcela tinham ao menos uma flor aberta.	Fraco .....	3
		Médio .....	5
		Forte .....	7
Cor da folha	Avaliado em plena floração.	Verde claro .....	3
		Verde médio .....	5
		Verde escuro .....	7
Formato do folíolo	Observação realizada no primeiro folíolo do segundo nó da floração.	Elíptico .....	1
		Oval .....	2
		Retangular .....	3
Cor da flor	Avaliado no momento da floração.	Branca .....	1
		Rosa .....	2
		Azul .....	3
Estrias violetas no standard	Observação visual em pleno florescimento.	Ausente .....	1
		Presente .....	9
Cor do cotilédone	Observação visual em 100 sementes após colheita.	Amarelo .....	1
		Laranja .....	2
		Verde .....	3
Cor do revestimento da semente	Observação visual em 100 sementes após a colheita.	Marrom .....	1
		Amarelo .....	2
		Verde .....	3
		Cinza .....	4
		Preto .....	5
		Vermelho .....	6

**Tabela 3.** Descritores morfológicos (quantitativos) aplicados na caracterização de 49 genótipos (48 linhagens de lentilha e a cultivar Silvina) provenientes do ICARDA e da Embrapa Hortaliças.

<b>Descritores</b>	<b>Métodos de avaliação</b>
Altura da planta	Mensurada após a floração, por meio de régua graduada, entre o nível do solo e o ápice de cada planta.
Número de dias até o início do florescimento	Número de dias decorridos a partir da semeadura até que 50% das plantas apresentassem a 1ª flor.
Inserção da primeira vagem	Avaliada no início da fase reprodutiva, por meio de régua graduada, entre o nível do solo e a primeira vagem do terço inferior da planta.
Comprimento da vagem	Comprimento longitudinal médio das vagens avaliado com uso de paquímetro digital (King.Tools [0-200mm] – digital caliper) após a colheita.
Largura da vagem	Comprimento transversal médio das vagens avaliado com uso de paquímetro digital após a colheita.
Número de vagens por planta	Contagem do número total de vagens por planta.
Número de sementes por planta	Contagem do número total de sementes por planta.
Rendimento de sementes por planta	Peso das sementes, em gramas, por planta.
Largura das sementes	Comprimento transversal médio das sementes avaliado com uso de paquímetro digital após a colheita.
Peso de 1000 sementes	Contagem realizada com o uso de contador digital (modelo ESC 2011/marca SANICK) e as amostras pesadas em balança digital de precisão (modelo BG200/marca GEHAKA).
Produtividade	Peso total de sementes da parcela, em gramas.
Ciclo	Contagem do número de dias corridos da semeadura até a colheita

### **3.2.3 Análise de agrupamento**

Para reunir as informações obtidas a partir das variáveis morfoagronômicas, foi realizada análise multivariada por meio de agrupamento (CRUZ, *et al.* 2012). Para tal, as variáveis qualitativas e quantitativas foram transformadas em dados binários. A partir desses dados, os valores de dissimilaridade foram calculados pelo coeficiente de Jaccard e projetados em um dendrograma estabelecido pelo método de agrupamento Unweighted Pair-Group Method Arithmetic Average (UPGMA). Além disso, foi realizado o método otimizado de Tocher para verificação da coerência dos grupos formados pelo dendrograma.

### **3.2.4 Análise estatística**

Para os descritores qualitativos foram calculadas as frequências percentuais de cada categoria e, para as características quantitativas, os dados experimentais foram submetidos à análise individual e conjunta de variância, com aplicação do teste F. Foi necessária a transformação das variáveis número de vagens por planta, número de sementes por planta, rendimento de sementes e peso de 1000 sementes para  $\sqrt{x + 0,5}$  e da produtividade para  $\log\sqrt{x + 0,5}$  para atender aos pressupostos da análise de variância. A análise conjunta foi realizada sob condições de homogeneidade das variâncias residuais (PIMENTEL-GOMES, 2009), utilizando-se o software SAS 9.2 (SAS 2009). Quando a interação linhagem x ano foi significativa, realizou-se o desdobramento dessa interação e o teste de médias da tabela de dupla entrada foi realizado com as médias ajustadas por meio do agrupamento de médias de Scott-Knott a 5% de probabilidade, com o auxílio do programa Genes (CRUZ, 2013).

### **3.2.5 Divergência genética**

Para o estudo da divergência genética, as características quantitativas foram subdivididas em classes de acordo com o agrupamento de Scott-Knott. As características qualitativas obedeceram às classes originais da caracterização morfológica (UPOV, 2015). Uma matriz binária (1- presença ou 0- ausência em determinado agrupamento de Scott-Knott ou em determinada classe qualitativa) foi estabelecida para o cálculo da distância entre os acessos pelo método de Jaccard (1908) e, em seguida, foi realizada análise de agrupamento por meio do método *Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean* (UPGMA).

## **3.3 Resultados e Discussão**

### **3.3.1 Características qualitativas**

A distribuição de frequência percentual para as características qualitativas demonstrou variações entre os genótipos estudados (48 linhagens + cultivar Silvina). O hábito de crescimento semiereto foi observado em 46,9% dos genótipos, seguido pelo ereto (40,9%) e pelo prostrado (12,2%). Apenas 8,2% dos genótipos apresentaram

pigmentação de antocianina no caule, que foi completamente ausente (caule verde) nos 91,8% restantes.

Para a intensidade da ramificação, 91,8% dos genótipos apresentaram a variante forte, enquanto a variante fraca foi verificada em 8,2% dos genótipos. A intensidade da cor da folha na tonalidade verde-médio foi predominante (91,8%), enquanto a tonalidade verde-forte ocorreu em 8,2% dos genótipos. Observa-se, no entanto, que a diferença entre as variantes de intensidade da cor da folha pode ser influenciada pela luminosidade no momento da avaliação, bem como pelo nível de nitrogênio no solo (Ferreira *et al.* 2011). O formato do folíolo oval (59,2%) predominou em relação ao elíptico (40,8%).

Flores brancas foram observadas em 97,9% dos genótipos. Somente o FLIP2009-15L apresentou flores de coloração rosa. Essa característica é importante para se verificar a pureza varietal (Roy *et al.* 2012), já que o parâmetro ‘cor da flor’ pode variar dependendo do genótipo, da idade da flor e de condições ambientais (Sharma 2009). Todos os genótipos apresentaram estrias violetas nas flores.

Em relação às sementes, o revestimento de coloração vermelha e o cotilédone alaranjado foram encontrados em 43 genótipos (87,8%). Revestimento verde foi observado em 12,2% e cotilédone verde em 10,2% dos genótipos. Apenas a cultivar Silvina apresentou cotilédone amarelo.

### **3.3.2 Características quantitativas**

As características quantitativas avaliadas foram influenciadas pelo genótipo e/ou pelo ano de avaliação, apresentando diferenças significativas ( $p \leq 0,05$ ), com exceção de altura da planta (Tabela 2). Interação significativa ( $p \leq 0,05$ ) ano x genótipo foi observada apenas para o número de dias até o início do florescimento. Dessa forma, realizou-se o desdobramento desses fatores (Tabela 3).

O número de dias até o início do florescimento variou de 50 a 107,5 no primeiro ano (2017) e de 59 a 92 no segundo ano (2018) (Tabela 3). Vieira (2003), trabalhando com genótipos de lentilha oriundos do ICARDA, em Coimbra - MG, verificou valores semelhantes ao encontrado no presente estudo para a variável início do florescimento (60 e 102 dias após a semeadura). A cultivar Silvina se destacou entre os genótipos nos dois anos de avaliação, mantendo seu padrão de florescimento precoce e apresentando 50% das plantas com ao menos uma flor aberta aos 50 dias e aos 59 dias no primeiro e no segundo ano, respectivamente. O genótipo FLIP2010-20L não diferiu da cultivar Silvina

no segundo ano da avaliação, com início do florescimento aos 65 dias. Os genótipos 81S15, FLIP2007-28L, FLIP2007-74L, FLIP2007-77L, FLIP2009-2L, FLIP2009-4L, FLIP2009-7L, FLIP2009-15L, FLIP2009-18L, FLIP2009-27L, FLIP2010-19L e FLIP2010-21L floresceram mais tardiamente nos dois anos. Comparando os anos observou-se uma diminuição no número de dias para o início do florescimento em 23 genótipos, com redução média de 8,5 dias e 24,2 dias nos genótipos FLIP2010-32L e 6031, respectivamente (Tabela 5).

**Tabela 4** – Resumo da análise de variância conjunta para as características morfoagronômicas quantitativas de 49 genótipos (48 linhagens de lentilha e em provenientes do ICARDA, em dois anos de cultivo, 2017 e 2018.

<b>Quadrado médio</b>													
<b>FV</b>	<b>GL</b>	<b>NDIF</b>	<b>APLA</b>	<b>IVAG</b>	<b>CVAG</b>	<b>LVAG</b>	<b>NVAG</b>	<b>NSEM</b>	<b>RSEM</b>	<b>LSEM</b>	<b>P1000</b>	<b>PROD</b>	<b>CI</b>
Ano (A)	1	2777,77**	14,86 <sup>ns</sup>	2488,72**	4,35 <sup>ns</sup>	4,61 <sup>ns</sup>	382,97**	201,92**	2,92**	9,83**	67,36**	0,10 <sup>ns</sup>	0,00 <sup>ns</sup>
Genótipo (G)	48	11147,82**	3244,22 <sup>ns</sup>	1549,05 <sup>ns</sup>	343,91**	72,92**	698,99 <sup>ns</sup>	714,48**	19,35**	60,66**	144,50 <sup>ns</sup>	7,04**	6891,89**
A X G	47	4297,19**	2167,32 <sup>ns</sup>	1214,88 <sup>ns</sup>	60,53 <sup>ns</sup>	19,42 <sup>ns</sup>	253,66 <sup>ns</sup>	142,83 <sup>ns</sup>	3,42 <sup>ns</sup>	18,84 <sup>ns</sup>	79,71 <sup>ns</sup>	2,43 <sup>ns</sup>	1422,66 <sup>ns</sup>
Média		85,25	49,84	25,07	10,38	6,17	73,06	46,44	1,38	4,29	5,43	307,0	143,94
CV (%)		7,03	12,38	17,58	10,58	8,91	31,14	32,67	23,08	17,30	13,05	22,40	4,95

<sup>ns</sup> não significativo (p < 5%); \*\* significativo (p < 5%) pelo teste F; NDIF = número de dias até o início do florescimento; APLA = altura de planta; IVAG = altura da inserção da primeira vagem; CVAG = comprimento da vagem; LVAG = largura da vagem; NVAG = número de vagens por planta; NSEM = número de sementes por planta; RSEM = rendimento de sementes; LSEM = largura das sementes; P1000 = peso de 1000 sementes; PROD = produtividade e CI = duração do ciclo.

**Tabela 5** – Valores médios do número de dias até o início do florescimento (NDIF), altura de planta (APLA), altura da inserção da primeira vagem (IVAG), comprimento da vagem (CVAG), largura da vagem (LVAG), número de vagens por planta (NVAG), número de sementes por planta (NSEM), rendimento de sementes por planta (RSEM), largura da semente (LSEM), peso de 1000 sementes (P1000), produtividade (PROD) e duração do ciclo (CI) de 49 genótipos (48 linhagens de lentilha e a cultivar Silvina) provenientes do ICARDA e da Embrapa Hortaliças, em dois anos de cultivo, 2017 e 2018.

N	GENÓTIPOS	NDIF		APLA (cm)	IVAG (cm)	CVAG (mm)	LVAG (mm)	NVAG -	NSEM -	RSEM (g planta <sup>-1</sup> )	LSEM (mm)	P1000 (g 1000 <sup>-1</sup> )	PROD (Kg.ha <sup>-1</sup> )	CI (dias)
		Ano												
		2017	2018											
1	81S15	93,0aA	92,0 aA	51,80	26,45	9,78e	6,27c	34,18	19,57d	0,47d	4,30c	28,04	143,48b	143a
2	FLIP90-25L	84,0bA	79,0bA	49,40	26,59	9,08f	5,65d	103,79	68,06b	1,64c	3,88d	26,12	604,40a	137b
3	FLIP2007-11L	89,5aA	79,0bB	48,48	25,40	13,38b	7,68a	78,69	46,68c	2,06b	5,79a	48,63	433,73a	140b
4	FLIP2007-16L	73,5bA	77,0bA	50,78	26,95	13,04b	7,40a	34,61	26,38d	1,13c	5,13b	52,11	294,48a	144a
5	FLIP2007-28L	93,0aA	92,0aA	48,21	26,09	11,98c	7,15b	46,06	23,60d	0,97d	4,50c	36,30	92,53b	145a
6	FLIP2007-42L	82,5bB	87,0aA	52,52	26,66	10,27e	6,17c	65,29	43,29c	1,16c	4,50c	32,14	222,55b	144a
7	FLIP2007-74L	89,5aA	92,0aA	56,48	26,13	10,05e	6,29c	57,33	37,57c	1,38c	4,08c	32,21	187,30b	148a
8	FLIP2007-75L	84,0bA	79,0bA	53,59	26,66	10,30e	6,43c	83,92	71,69b	2,71b	4,75b	32,82	335,64a	144a
9	FLIP2007-77L	98,5aA	92,0 aA	52,56	29,60	9,57f	5,70d	39,09	23,79d	0,50d	3,68d	25,09	74,85b	148a
10	FLIP2008-2L	84,0bA	80,0bA	52,70	32,68	10,13e	6,27c	63,80	29,72d	0,95d	4,44c	36,88	186,03b	140b
11	FLIP2009-1L	79,0bA	79,0bA	52,35	20,58	11,07d	6,67b	144,88	89,55b	2,63b	4,51c	28,99	399,68a	147a

Continuação...

Continuação Tabela 5

N	GENÓTIPOS	NDIF		APLA	IVAG	CVAG	LVAG	NVAG	NSEM	RSEM	LSEM	P1000	PROD	CI
		Ano												
		2017	2018											
12	FLIP2009-2L	95,0aA	92,0aA	46,88	25,08	10,66e	6,30c	69,12	56,88c	1,60c	4,18c	29,03	486,78a	146a
13	FLIP2009-4L	95,0aA	90,5aA	53,51	26,95	8,86f	5,85c	99,73	38,68c	0,92d	4,03c	24,50	118,93b	149a
14	FLIP2009-5L	97,0 aA	79,0bB	56,35	26,60	8,98f	5,68d	28,87	7,59d	0,07d	3,57d	23,31	139,80b	150a
15	FLIP2009-7L	95,0 aA	91,0aA	50,89	28,44	9,13f	5,89c	54,41	36,71c	0,98d	4,21c	26,20	229,38b	145a
16	FLIP2009-9L	98,5aA	85,5bB	50,41	23,84	8,17g	5,25e	105,68	45,71c	1,20c	3,46d	21,21	42,65b	153a
17	FLIP2009-10L	93,0aA	81,0bB	50,39	28,16	8,71f	5,49d	70,55	61,16c	0,88d	3,58d	22,75	80,08b	142a
18	FLIP2009-11L	77,5bA	79,7bA	42,44	22,06	9,40f	5,74d	153,10	63,26b	1,62c	4,12c	23,10	290,68b	148a
19	FLIP2009-12L	78,5bA	80,3bA	50,93	23,35	11,01d	6,09c	110,77	79,62b	2,61b	4,51c	29,79	421,07a	138b
20	FLIP2009-13L	95,0aA	83,3bB	52,18	26,30	9,46f	5,97c	66,74	26,70d	0,64d	3,17d	25,84	217,98b	147a
21	FLIP2009-14L	91,5 aA	80,0bB	48,65	24,20	10,09e	5,86c	90,30	55,01c	1,37c	4,43c	28,89	363,83a	143a
22	FLIP2009-15L	91,5 aA	92,0aA	49,76	24,52	8,90f	5,23e	49,37	30,72d	0,73d	3,32d	20,59	207,85b	148a
23	FLIP2009-16L	98,5 aA	77,0bB	50,01	23,84	9,53f	5,26e	58,05	44,60c	1,11c	3,99c	27,13	100,50b	144a
24	FLIP2009-17L	91,5 aA	77,3bB	53,21	25,18	10,78e	6,39c	62,60	41,59c	1,15c	4,23c	31,20	175,88b	148a
25	FLIP2009-18L	93,5 aA	92,0aA	50,80	27,60	9,85e	6,19c	38,39	23,40d	0,67d	4,17c	29,47	104,13b	140b
26	FLIP2009-19L	91,5 aA	79,0bB	43,83	19,50	9,95e	6,53c	160,50	129,83a	3,42a	4,20c	24,84	469,34a	148a
27	FLIP2009-25L	98,5 aA	79,0bB	46,91	23,66	9,86e	6,07c	104,54	59,06c	1,49c	4,42c	28,57	102,03b	138b
28	FLIP2009-26L	95,0aA	83,5bB	50,45	22,53	9,56f	6,12c	86,54	48,59c	1,27c	4,42c	28,44	272,35b	145a
29	FLIP2009-27L	93,0aA	92,0aA	56,64	25,36	9,36f	6,11c	65,41	51,69c	1,61c	4,30c	29,25	378,55a	144a
30	FLIP2010-2L	95,0aA	81,0bB	49,82	24,36	12,31c	7,27a	55,25	33,10c	1,45c	5,47a	49,70	239,93b	149a
31	FLIP2010-8L	95,0aA	80,5bB	57,11	26,50	11,92c	6,61b	28,51	15,09d	0,55d	5,19b	48,55	225,65b	148a
32	FLIP2010-12L	101,5 aA	78,3bB	47,27	26,78	12,43c	6,92b	36,15	21,96d	0,61d	4,72b	43,45	141,59b	144a

Continuação...

Continuação Tabela 5

N	GENÓTIPOS	NDIF		APLA	IVAG	CVAG	LVAG	NVAG	NSEM	RSEM	LSEM	P1000	PROD	CI
		Ano												
		2017	2018	(cm)	(cm)	(mm)	(mm)	(g planta <sup>-1</sup> )	(mm)	(g 1000 <sup>-1</sup> )	(Kg.ha <sup>-1</sup> )	(dias)		
33	FLIP2010-19L	93,0aA	87,0aA	49,82	24,36	12,31c	7,27a	55,25	33,10c	1,45c	5,47a	35,93	188,41b	149a
34	FLIP2010-20L	88,0 aA	65,0cB	57,11	26,50	11,92c	6,61b	28,51	15,09d	0,55d	5,19b	38,06	714,00a	148a
35	FLIP2010-21L	93,0aA	88,7aA	47,27	26,78	12,43c	6,92b	36,15	21,96d	0,61d	4,72b	30,50	166,19b	144a
36	FLIP2010-22L	91,5aA	77,0bB	46,60	24,85	9,11f	5,75d	47,73	25,91d	0,62d	3,83d	24,40	68,63b	148a
37	FLIP2010-23L	100,5aA	83,7bB	53,14	25,87	9,56f	6,02c	45,75	38,54c	0,61d	5,07b	29,05	150,95b	146a
38	FLIP2010-24L	77,5bA	82,3bA	48,03	22,82	10,28e	6,25c	66,10	40,34c	1,18c	4,26c	28,78	242,75b	141b
39	FLIP2010-27L	74,5bA	79,0bA	44,14	22,64	10,77e	6,38c	182,92	152,29a	4,49a	4,54c	28,30	426,82a	140b
40	FLIP2010-28L	101,5 aA	82,0bB	51,79	26,42	7,46g	4,62e	45,42	14,12d	0,31d	3,14d	32,09	56,54b	140b
41	FLIP2010-29L	95,0 aA	84,3bB	51,24	25,56	9,33f	5,69d	82,50	40,41c	0,91d	3,90d	27,00	122,49b	141b
42	FLIP2010-30L	89,5 aA	79,0bB	52,48	22,43	9,82e	6,25c	87,47	53,21c	1,82c	4,31c	27,98	121,37b	146a
43	FLIP2010-31L	93,0 aA	72,3bB	49,52	23,33	10,93d	6,13c	103,65	77,68b	2,11b	4,22c	29,15	323,05a	146a
44	FLIP2010-32L	87,5 aA	79,0bB	50,97	26,08	9,64f	6,03c	93,46	50,75c	1,68c	3,95c	24,03	230,07b	144a
45	FLIP2010-99L	79,5bA	76,0bA	45,03	21,10	10,74e	6,34c	114,38	85,34b	2,62b	4,52c	31,78	976,91a	138b
46	FLIP2010-100L	82,5bA	85,5bA	40,15	20,70	10,52e	5,90c	173,68	149,37a	4,34a	4,10c	28,49	325,23a	138b
47	FLIP2010-106L	71,0bA	81,7bA	49,99	19,94	11,47d	5,81d	148,23	134,68a	4,15a	4,24c	30,37	682,67a	143a
48	SILVINA	50,0cB	59,0cA	37,70	16,82	14,42a	7,96a	81,24	71,42b	3,74a	5,73a	53,47	2259,03a	127c
49	6031	107,5aA	83,3bB	43,71	23,55	11,34d	5,63d	64,01	47,50c	1,39c	3,86d	26,68	217,29b	133c

\*Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha pertencem ao mesmo grupo pelo teste de Scott e Knott a ( $p < 5\%$ ).

É possível que isso seja resultado do atraso na semeadura da lentilha no segundo ano (14 dias), uma vez que as condições de temperatura média da semeadura até o início do florescimento foram semelhantes em ambos os anos (máx. 26,4 °C e min. 14,8 °C – 2017; máx. 26,6 °C e min. 14,3 °C - 2018).

Não houve efeito significativo de genótipos e de ano para altura da planta (Tabela 2). Apesar disso, todos os genótipos apresentaram valor numérico de altura da planta acima do valor obtido pela cultivar Silvina (Tabela 5). Plantas de lentilha podem variar de 20 cm a 75 cm de altura, dependendo do genótipo e das condições de cultivo (SAXENA, 2009). Em relação à altura da inserção da primeira vagem, não houve diferença significativa entre os genótipos, sendo o menor valor numérico observado na cultivar Silvina, com 16,82 cm. Plantas de lentilha que apresentem vagens a partir de 10-15 cm de altura em relação à superfície do solo podem favorecer um melhor estado fitossanitário das sementes e menor perda na colheita mecanizada (DIEKMANN; AL-SALEH 2009). Dessa forma, todos os genótipos apresentaram padrão adequado para essa característica.

Os genótipos FLIP2010-27L, FLIP2010-100L, FLIP2009-19L, FLIP2009-11L, FLIP2010-106L e FLIP2009-1L compuseram o grupo de maior média para o número de vagens por planta (Tabela 3). O maior comprimento da vagem foi obtido pela cultivar Silvina (14,42 mm), diferindo estatisticamente dos genótipos. Entretanto, em relação à largura da vagem, os genótipos FLIP2010-2L e FLIP 2010-19L (7,27 mm), FLIP2007-11L (7,68 mm) e FLIP2007-16L (7,40 mm) não diferiram estatisticamente da cultivar Silvina (7,96 mm). Mas para rendimento de sementes por planta, esses quatro genótipos diferiram estatisticamente da cultivar Silvina.

Os genótipos FLIP2007-11L, FLIP2010-2L, FLIP2010-19L e a cultivar Silvina apresentaram as maiores larguras de sementes, diferenciando-se em relação aos demais (Tabela 3). A cultivar Silvina apresentou o maior peso em mil sementes (53,47g), seguida pelos genótipos FLIP 2007-16L (52,11g), FLIP 2010-2L (49,70g), FLIP 2007-11L (48,63g), FLIP 2010-8L (48,55g) e FLIP 2010-12L (43,45g). O genótipo FLIP 2009-15L apresentou o menor peso (20,59g) (Tabela 5).

Em termos de produtividade, a cultivar Silvina ficou entre os genótipos mais produtivos, apresentando produtividade média (2.259 kg ha<sup>-1</sup>) muito superior em relação à média mundial (1.042 kg ha<sup>-1</sup>) (FAOSTAT, 2020). A cultivar Silvina e o genótipo 6031 se mostraram mais precoces quanto ao comprimento do ciclo, doze genótipos apresentaram ciclo intermediário e 35 genótipos ciclo tardio (Tabela 5).

### 3.3.3 Divergência genética

Considerando-se as 21 características morfoagronômicas avaliadas, foi originado um dendrograma (Figura 1) com a formação de cinco grupos, ao nível de similaridade de 40%, obtendo-se um coeficiente cofenético aceitável (0,76). Os grupos de I a III foram compostos pelas linhagens classificadas como microsperma com cor do revestimento vermelho e cotilédone alaranjado e os grupos IV e V pelos genótipos macrosperma com sementes de revestimento verde e cotilédones verdes e amarelos.

O grupo I alocou 18 genótipos, sendo esses a maioria dos que apresentaram o hábito de crescimento ereto, intensidade da ramificação média, valores numéricos mais altos para altura da planta, altura da inserção da primeira vagem e peso de 1000 sementes entre as microspermas. O grupo II alocou 25 genótipos, sendo a maioria com hábito de crescimento semiereto, intensidade da ramificação forte, intensidade da cor da folha média, as maiores variações para formato do folíolo entre oval e elíptico, as menores médias de número de dias até o início do florescimento entre as microspermas, as maiores médias para comprimento e largura de vagem, número de sementes por planta, rendimento de sementes e largura de sementes. O grupo II incluiu o genótipo mais produtivo entre as microspermas (FLIP 2010-99L).

O grupo III alocou dois genótipos que apresentaram menor largura de sementes entre as microspermas e ciclo mais precoce. A produtividade média desse grupo foi de 410,84 kg ha<sup>-1</sup>, a mais alta em comparação aos grupos I e II.

O genótipo alocado no grupo IV apresentou hábito de crescimento semiereto, intensidade da ramificação e intensidade da cor da folha caracterizada como fortes, com revestimento e cotilédones verdes.

O grupo V, composto por três genótipos, apresentou similaridade variando de 35% (FLIP2007-16L em relação aos demais) a 55% (FLIP2007-11L e FLIP2010-2L), alocando os genótipos de hábito de crescimento ereto, com presença de pigmentação de antocianina nos caules dos genótipos FLIP2007-11L e na cultivar Silvina, cor do revestimento da semente verde, cor do cotilédone verde (FLIP2007-11L e FLIP2010-2L) e amarelo (Silvina), maiores comprimento e largura da vagem, maior número de sementes por planta, melhores rendimento de sementes por planta e produtividade, além do genótipo mais precoce entre aqueles do tipo macrosperma, ou seja, a cultivar Silvina.



Houve coincidência parcial entre os grupos estabelecidos pelo teste de Tocher e pelo dendrograma. O teste de Tocher estabeleceu seis grupos (Tabela 6), enquanto o corte no dendrograma possibilitou o estabelecimento de cinco grupos (Figura 1). Dos 35 genótipos agrupados no primeiro grupo pelo teste de Tocher, 34 foram contemplados pelos grupos I e II do dendrograma. Os grupos II, III e IV do teste de Tocher foram integralmente contemplados pelo grupo II do dendrograma, com exceção do genótipo 6031, agrupado no grupo III do dendrograma. Os genótipos do tipo macrosperma (FLIP 2010-8L, FLIP 2007-16L, FLIP 2007-11L, FLIP 2010-2L e Silvina) foram distribuídos entre os grupos I, IV e V do dendrograma; no entanto, foram todos reunidos no grupo V do teste de Tocher, com exceção de Silvina, que formou um grupo isolado neste último teste.

Dados de agrupamento por si só não permitem definir cruzamentos, pois as linhagens geneticamente distintas não necessariamente apresentam a melhor capacidade de combinação (VAZ *et al.* 2017). Também devem ser levadas em consideração as melhores médias para os caracteres de interesse entre as linhagens contrastantes, possibilitando o aumento da frequência de combinações superiores (CRUZ *et al.* 2012). Assim, levando-se em consideração características como hábito de crescimento, cor do revestimento das sementes, cor do cotilédone, altura da planta, número de dias até o início do florescimento, peso de 1000 sementes e produtividade, as linhagens FLIP2010-8L e FLIP2010-12L (grupo I), FLIP2010-99L, FLIP2010-20L e FLIP2010-106L (grupo II), FLIP90-25L e 6031 (grupo III), FLIP2007-16L (grupo IV) e a cultivar comercial Silvina (grupo V) demonstram-se as mais promissoras para o uso em programas de melhoramento genético da espécie.

## **Conclusão**

Os genótipos FLIP2010-99L, FLIP2010-20L, FLIP2010-106L e FLIP90-25L apresentaram as melhores médias para características de interesse comercial dentro do grupo das microspermas. No grupo macrosperma, a cultivar Silvina apresentou valor médio de produtividade destacadamente alto, não sendo identificado, no presente estudo, um genótipo do tipo macrosperma superior a cultivar comercial já existente.

Mediante a associação das técnicas de agrupamento com os dados de caracterização, foi possível identificar genótipos divergentes e, ao mesmo tempo,

superiores quanto a características agronômicas: FLIP2010-8L e FLIP2010-12L (grupo I), FLIP2010-99L, FLIP2010-20L e FLIP2010-106L (grupo II), FLIP90-25L e 6031 (grupo III), FLIP2007-16L (grupo IV) e a cultivar comercial Silvina (grupo V). Esses genótipos apresentam potencial para serem utilizados em programas de melhoramento genético da espécie.

**Tabela 6** – Agrupamento pelo método de Tocher com base na distância calculada pelo método de Jaccard entre 49 genótipos de lentilha, sendo 48 linhagens experimentais e a cultivar comercial Silvina.

Grupo (número)	Genótipos
1	FLIP 2007-74L; FLIP 2009-17L; FLIP 2007-42L; FLIP 2010-32L; FLIP 2009-26L; FLIP 2010-30L; FLIP 2010-24L; FLIP 2010-22L; FLIP 2009-25L; FLIP 2010-29L; FLIP 2007-77L; FLIP 2009-18L; FLIP 2009-7L; FLIP 90-25L; FLIP 2009-14L; FLIP 2009-15L; FLIP 2009-13L; FLIP 2009-16L; FLIP 2009-2L; FLIP 2009-27L; 81S15; FLIP 2010-23L; FLIP 2010-20L; FLIP 2009-4L; FLIP 2009-9L; FLIP 2009-5L; FLIP 2010-28L; FLIP 2010-99L; FLIP 2009-10L; FLIP 2009-11L; FLIP 2009-1L; FLIP 2007-75L; FLIP 2010-31L; FLIP 2009-12L; FLIP 2008-2L
2	FLIP 2010-21L
3	FLIP 2009-19L
4	FLIP 2010-27L; FLIP 2010-100L; FLIP 2010-106L; 6031
5	FLIP 2010-2L; FLIP 2010-8L; FLIP 2010-19L; FLIP 2007-11L; FLIP 2007-16L; FLIP 2010-12L; FLIP 2007-28L
6	Silvina

## Referências

- BURLE, ML; OLIVEIRA, MSP. Manual de curadores de germoplasma vegetal: caracterização morfológica. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Belém: Embrapa Amazônia Oriental. 15p. (**Documentos**, 312, 378), 2010.
- COMEX STAT. 2021. **Exportação e importação geral**. Disponível em: <http://comexstat.mdic.gov.br/pt/geral>. Acessado em janeiro 20, 2021.
- CRUZ, CD. Genes – a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. **Acta Scientiarum. Agronomy**, 35(3), 271-276, 2013
- CRUZ, CD; REGAZZI, AJ; CARNEIRO, PCS. **Modelo biométrico aplicado ao melhoramento genético**. Viçosa: UFV, 2012.
- DIEKMANN, J; AL-SALEH, Y. 2009. Mechanization. In: ERSKINE W.; MUEHLBAUER F.J.; SARKER A.; SHARMA B. (eds) The lentil: **Botany, production and uses**. Wallingford, UK: CABI International. p.121-136, 2009.
- EMBRAPA HORTALIÇAS. **Cultivares da Embrapa Hortaliças (1981-2013)**. Brasília, DF: Embrapa. p.80-81, 2014.
- FAOSTAT. 2020. **Crop, lentil production in the world**. Available at: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC/visualize>. Acessado em janeiro 20, 2020.
- FERREIRA, CA; PINHO, EVRV; PAIVA, PDO; PEREIRA, GS; DINIZ, RP. Identificação de cultivares e certificação da pureza genética de gladiolo por meio de marcadores morfológicos. **Ciência e Agrotecnologia**, 35: 692-700, 2011.
- GIORDANO, LB; PEREIRA, W; LOPES, JF. Cultivo da lentilha. Brasília: Embrapa Hortaliças. 3p. (**Instruções Técnicas**, 9), 1988.
- GIORDANO, LB; NASCIMENTO, WM. 2009. **Lentilha Silvina – precocidade e sabor**. Brasília: Embrapa Hortaliças (folder), 2009
- INMET. **Estações convencionais – gráfico**. Disponível em: [http://www.inmet.gov.br/portal/index.php?r=home/page&page=rede\\_estacoes\\_conv\\_graf](http://www.inmet.gov.br/portal/index.php?r=home/page&page=rede_estacoes_conv_graf). Acesso em: 1 dez. 2018.
- KUMAR J., SRIVASTVA E.; SINGH M. 2013. Genetics of early growth vigour in lentil (*Lens culinaris* Medik.). **J. Genet.**, 92(2): 323, 2013.
- KOTTEK, M; GRIESER, J; BECK, C; RUDOLPH, B; RUBEL, F. World map of the Köppen Geiger climate classification updated. **Meteorologische Zeitschrift** 15: 259-263, 2006.
- LIU, K; BLACKSHAW, E; JOHNSON, EN; HOSSAIN, Z; HAMEL, C; ST-ARNAUD, M; GAN, Y. Lentil enhances the productivity and stability of oil seed-cereal cropping systems across different environments. **European Journal of Agronomy**, 105: 24-31, 2019.

- MALHOTRA, N; PANATU, S; SINGH, B; NEGI, N; SINGH, D; SINGH, M; CHANDORA, R. Genetic resources: collection, conservation, characterization and maintenance. In: SINGH, M (ed.) **Lentils: potential resources for enhancing genetic gains**. Elsevier. p. 21-41, 2019.
- MAROUELLI, WA; CALBO, AG. Manejo de irrigação em hortaliças com Sistema Irrigas. Brasília: Embrapa Hortaliças, 16p. (**Embrapa Hortaliças. Circular técnica, 69**), 2009.
- PIMENTEL-GOMES, F. **Curso de estatística experimental**. Piracicaba: BR: ESALQ. 451p. 2009.
- RAWAL, V; BANSAL, V. Lentil: emergence of large-scale, export-oriented production. In: RAWAL, V; NAVARRO, DK (eds). **The global economy of pulses**. Rome, FAO. p.71-85, 2019
- RASHEED, M; NASEER, T; HASSAN, A; HASSAN F; HAYAT, R; JILANI, G; VASEER, SG; ALI, MB. Isolation of nodule associated bacteria for promotion of lentil growth. **Pakistan Journal of Agricultural Research**, 33(1): 170-179, 2020
- ROY, S; ISLAM, MA; SARKER, A; ISMAIL, MR; RAFIL, MY; MONDAL, MMA; MALEK, MA. Morphological characterization of lentil accessions: qualitative characters. **Bangladesh Journal of Botany 2**: 187–190, 2012.
- SAS Institute (Cary, NC). **SAS System for Windows**. Version 9.2: software., 2009
- SAXENA, MC. Plant morphology, anatomy and growth habit. In: ERSKINE, W; MUEHLBAUER, FJ; SARKER, A; SHARMA, B. **The lentil botany, production and uses**. Wallingford, UK: CABI International. p.34-46, 2009.
- SHAHWAR, D; BHAT, TM; ANSARI, MYK; CHAUDHARY, S; ASLAM, R. Health functional compounds of lentil (*Lens culinaris* Medik): A review. **International Journal of Food Properties**, 201:1-15, 2017.
- SHARMA, B. Genetics of economic traits. In: ERSKINE, W; MUEHLBAUER, FJ; SARKER, A; SHARMA, B. **The lentil botany, production and uses**. Wallingford, UK: CABI International. p.78-101, 2009.
- STRYDHORST, S; OLSON, MA; VASANTHAN, T; McPHEE, KE; McKENZIE, RH; HENRIQUEZ, B; TIEULIE, J; MIDDLETON, A; DUNN, R; PFIFFNER, P; COLES, MB; KRUGER, A; BOWNESS, R; BING, DJ; BEAUCHESNE, D. Adaptability and quality of winter pea and lentil in Alberta. **Agronomy Journal** 107(6): 2431-2448, 2015.
- UPOV. 2015. Lentil. UPOV code: LENSS\_CUL. *Lens culinaris* Medik. **Guidelines for the conduct of the tests of distinctness, homogeneity and stability**, TG/210/2. UPOV, International Union for the Protection of New Varieties of plants, Geneva, Switzerland. Available at [www.upov.int/edocs/tgdocs/en/tg210.pdf](http://www.upov.int/edocs/tgdocs/en/tg210.pdf). Acessado em março 05, 2017.
- VAZ, DC; MORAIS JÚNIOR, OP; PEIXOTO. Agro-morphological characterization and genetic divergence assessment in bush snap bean genotypes. **Pesquisa Agropecuária Tropical** 47(2): 134-144, 2017.
- VIEIRA, RF. 2003. Potencialidade da cultura da lentilha em Coimbra, Minas Gerais. **Ceres**. v. 50, n. 291, 2003.

VIEIRA, RF; LIMA, RC. **Lentilha**. In: NASCIMENTO, WM (ed.). 1 ed. p.121-146, 2016.

VIEIRA RF; VIEIRA C; VIEIRA RF. **Leguminosas graníferas**. Editora UFV. p.161-168, 2001.

## 4 COMPOSIÇÃO CENTESIMAL E CONTEÚDO MINERAL NA SELEÇÃO DE ACESSOS DE LENTILHA

### Resumo

A lentilha (*Lens culinaris* Medik) é leguminosa de grãos secos (*pulse*) que apresenta elevado teor proteico, minerais essenciais, vitaminas e antioxidantes, além de apresentar um cozimento rápido. Com atributos nutricionais excepcionais, pode beneficiar, de forma direta, o alcance da segurança alimentar, minimizando problemas de deficiência de minerais e da fome oculta. Nesse cenário, faz-se necessária a identificação de acessos que apresentem variações na composição nutricional com vistas à seleção de progenitores que poderão ser utilizados no programa de melhoramento genético. Portanto, o objetivo deste trabalho foi determinar a composição centesimal e os teores de minerais de 49 acessos de lentilha (48 linhagens e a cultivar Silvina). Os grãos crus foram triturados e avaliados quanto aos teores de umidade, cinzas, proteínas, lipídios, carboidratos e os minerais fósforo (P), potássio (K), magnésio (Mg), enxofre (S), cálcio (Ca) ferro (Fe), manganês (Mn), zinco (Zn), molibdênio (Mb), boro (Bo) e cobre (Cu). Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo método de agrupamento de Scott-Knott ( $p < 0,05$ ). Variações foram observadas para os teores de proteína (20,79-34,68%), carboidratos (7,33-8,19 g / 100 g), gordura (0,04-1,99 g / 100 g), umidade (6,66-12,24%) e cinzas (0,97-1,11%), sendo o teor de gordura o componente com maiores variações entre os acessos. Para os minerais, houve variações (mg / 100 g) para P (298,66–575), K (655,04–1068,37), Mg (83,09–99,76), S (135,90–231,56), Ca (50,53–119,03), Zn (4,51–7,59), Fe (3,26–10,79), Mn (1,44–3,76), Bo (0,34–1,90), Mo (0,19–0,67) e Cu (0,17–0,82), sendo B e Mn os micronutrientes mais variáveis entre os genótipos. Os genótipos FLIP2007-28L, FLIP2007-75L, FLIP2009-1L, FLIP2009-2L, FLIP2009-4L, FLIP2009-9L, FLIP2009-12L, FLIP2009-14L, FLIP2009-25L, FLIP2010-12L, FLIP2010-19L, FLIP2010-27L, FLIP2010-100L, em função da destacada composição centesimal e do teor de minerais, podem ser indicados para ampliação de bases genéticas e biofortificação de cultivares de lentilha.

**Palavras-chave:** *Lens culinaris*, valor nutricional, micronutrientes, alimentos funcionais.

**Abstract**

The lentil (*Lens culinaris* Medik) is a dry grain legume (pulse) with a high protein content, essential minerals, vitamins, and antioxidants, in addition to being quick to cook. Thus, these exceptional nutritional attributes, it can directly benefit the achievement of food security, minimizing problems of mineral deficiency and hidden hunger. In this scenario, it is necessary to identify lentil genotypes that present variations in its nutritional composition, aiming to select parental lines to be used in breeding programs. Therefore, the objective of this work was to characterize the proximate composition and mineral content of 49 lentil genotypes (48 breeding lines and the cultivar Silvina). The raw grains were crushed and analyzed for their moisture, ash, proteins, lipids and carbohydrates and minerals phosphorus (P), potassium (K), magnesium (Mg), sulfur (S), calcium (Ca) iron (Fe), manganese (Mn), zinc (Zn), molybdenum (Mb), boron (Bo) and copper (Cu) content. Means were compared by analysis of variation, followed by the Scott-Knott clustering method ( $p < 0.05$ ). Variations were observed for protein contents (20.79–34.68 %), carbohydrates (7.33–8.19 g/100 g), fat (0.04–1.99 g /100 g), moisture (6.66-12.24 %) and ash (0.97-1.11 %), with the fat content being the component with greatest variations among accessions. For minerals, there were variations (mg /100 g) for P (298.66–575), K (655.04–1068.37), Mg (83.09–99.76), S (135.90–231.56), Ca (50.53–119.03), Zn (4.51–7.59), Fe (3.26–10.79), Mn (1.44–3.76), Bo (0.34–1.90), Mo (0.19–0.67) and Cu (0.17–0.82), with B and Mn being the most variable micronutrients among the lentil accessions. Thus, genotypes FLIP2007-28L, FLIP2007-75L, FLIP2009-1L, FLIP2009-2L, FLIP2009-4L, FLIP2009-9L, FLIP2009-12L, FLIP2009-14L, FLIP2009-25L, FLIP2010-12L, FLIP2010-19L, FLIP2010-27L, FLIP2010-100L, due to their enhanced proximate composition and mineral content, can be indicated for the expansion of genetic basis and biofortification of lentil cultivars.

**Keywords:** *Lens culinaris*, pulses, nutritional content, micronutrients, functional foods.

## 4.1 Introdução

A lentilha (*Lens culinaris* Medik.) se destaca pelo seu teor nutritivo como uma importante fonte de proteínas, carboidratos complexos, vitaminas A, C, e as do complexo B bem como minerais essenciais incluindo cálcio, ferro, zinco, magnésio, potássio, (KUMAR *et al.*, 2018). A lentilha ainda apresenta compostos fenólicos com alta ação antioxidante, quando comparada a outras leguminosas de grãos secos, coletivamente denominadas como *pulses* (GRELA *et al.*, 2017). Apresenta um cozimento rápido podendo ser consumida na forma inteira, descascada e dividida (NOSWORTHY *et al.*, 2017). Na indústria, vem sendo amplamente utilizada na fabricação de novos alimentos *plant-based*, impulsionando o mercado global de lentilha.

Com esses atributos de elevada qualidade alimentar, a lentilha pode contribuir no enfrentamento de desafios globais de saúde, com destaque para o alcance da segurança alimentar, minimizando problemas de deficiência de minerais e da chamada “fome oculta” (RAWAL *et al.*, 2019). Além disso, o consumo de lentilha está sendo associado à redução do risco de doenças cardiovasculares, ao controle do diabetes, à prevenção do câncer, ao aumento do metabolismo e até mesmo à melhoria da digestão (FARIS *et al.*, 2013).

A deficiência de minerais atinge mais de dois bilhões de pessoas no mundo, sendo a deficiência de ferro (Fe) e zinco (Zn) a mais comum e predominante em países asiáticos, africanos e latino-americanos (JHA; WARKENTIN, 2020).

No Brasil, além da deficiência de Fe e Zn, é comum a população apresentar deficiência de vitaminas e de outros minerais essenciais, particularmente vitamina A, B9, D, selênio (Se) e cálcio (Ca), pois não atende à ingestão diária recomendada (IDR) (COZZOLINO, 2007). Como consequência, é possível o surgimento de problemas no sistema imunológico, alterações neurológicas e motoras, entre outras doenças (RUBERT *et al.*, 2017).

Uma estratégia que pode auxiliar na prevenção e no combate às deficiências minerais é a introdução de produtos agrícolas biofortificados (RIOS *et al.*, 2009). Essa técnica é caracterizada pelo aumento do conteúdo de nutrientes e vitaminas em uma cultura, por meio de melhoramento genético convencional ou engenharia genética (LOUREIRO *et al.*, 2018). No Brasil, um leque de produtos biofortificados como arroz, feijão, milho, mandioca, batata-doce e trigo já foram disponibilizados (EMBRAPA, 2021).

A lentilha possui grande potencial para ser biofortificada, como apontam vários estudos da existência de variabilidade genética em relação a parâmetros nutricionais (KHAZEI *et al.*, 2019; KUMAR *et al.*, 2018; ALGHAMDI *et al.*, 2014). Recentemente, o International Center for Agricultural Research in the Dry Areas (ICARDA) e o HarvestPlus lançaram dezessete variedades de lentilha biofortificadas com altas concentrações de Fe e Zn, já disponibilizadas para países como a Índia, Nepal, Bangladesh, Síria e Etiópia (JHA; WARKENTIN, 2020).

O ICARDA disponibilizou à Embrapa Hortaliças genótipos de lentilha o que vai permitir a ampliação da base genética e retomar, de maneira mais vigorosa, o programa de melhoramento dessa espécie no Brasil. No entanto, informações referentes ao conteúdo nutricional desses acessos elite de lentilha ainda não estão disponíveis. Assim, com essa lacuna e a relevante importância da cultura como fonte proteica, aliada ao crescente interesse científico pela sua composição química, buscou-se, no presente trabalho, determinar as variações na composição centesimal e mineral dos genótipos de lentilha com prospecção de características de interesse e indicação de genótipos com potencial para serem utilizados no programa de melhoramento dessa espécie.

## **4.2 Materiais e Métodos**

O presente estudo foi conduzido no laboratório de solos e nutrição de plantas e no laboratório de Ciência e Tecnologia de Alimentos da Embrapa Hortaliças, Brasília–DF. Amostras de 49 acessos de lentilha (48 linhagens e a cultivar ‘Silvina’), descritas no capítulo 3, foram obtidas do experimento conduzido a campo, durante a safra 2017. As amostras foram limpas e armazenadas em frascos de vidro herméticos. Foram utilizadas amostras dos grãos inteiros, crus e moídos. Determinou-se a composição centesimal (umidade, cinzas, gordura, proteínas e carboidratos) – apresentada na seção 2.1 –, com base na metodologia da AOAC (2016), e o conteúdo mineral (fósforo, potássio, magnésio, enxofre, ferro, manganês, zinco, molibdênio, boro, cobre e cálcio) – apresentado na seção 2.2. Todas as amostras foram analisadas em triplicata.

### **4.2.1 Composição centesimal**

**Umidade:** o conteúdo de umidade foi determinado por gravimetria em estufa a 105 °C. Foram pesadas 2 g da amostra (sementes cruas e inteiras) homogeneizada, em cápsula de porcelana previamente pesada. Depois, as amostras foram colocadas em estufa a 105 °C

por 4 horas. Após esse período, o material foi resfriado em dessecador e o teor de umidade foi determinado através da fórmula:

$$U\% = 100 \times (A - B) / B$$

Onde:

U% = Teor de umidade

A = Peso da amostra úmida

B = Peso da amostra seca

**Cinza total:** o resíduo mineral fixo ou cinzas foi determinado pelo método gravimétrico. As amostras provenientes da análise de umidade foram incineradas por 4 horas em mufla a 550 °C até obtenção de cinzas brancas ou acinzentadas. Após esta etapa, foram calculadas as percentagens de cinzas em relação ao pó que foi submetido ao processo de secagem através da fórmula:

$$C\% = 100 \times (W2 - W1) / W$$

Onde:

C% = Teor de cinza

W1 = Peso do cadinho (antes da incineração)

W2 = Peso do cadinho + Peso da amostra (após incineração)

W = Peso da amostra

**Proteína bruta:** o teor da proteína foi obtido através da determinação do nitrogênio total. O método utilizado foi o de Kjeldahl, baseado na digestão da amostra (1 g de sementes cruas trituradas) com ácido sulfúrico concentrado até que o carbono e o hidrogênio fossem oxidados. O nitrogênio da proteína foi reduzido e transformado em sulfato de amônia. Adicionou-se hidróxido de sódio e aqueceu-se para a liberação da amônia dentro de um volume conhecido de solução de ácido bórico. O borato de amônia formado foi titulado com ácido sulfúrico 0,05 M. O valor de nitrogênio obtido na amostra, bem como o valor da proteína bruta foram calculados usando as seguintes fórmulas, respectivamente:

$$NT = \frac{(V_a - V_b) \times F \times N \times 14 \times 100}{P1 \times 1000}$$

Onde:

NT = teor de nitrogênio total na amostra, em percentagem

V<sub>a</sub> = volume da solução de ácido sulfúrico gasto na titulação da amostra, em mililitros

V<sub>b</sub> = volume da solução de ácido sulfúrico gasto na titulação do branco, em mililitros

N = normalidade do HCl

F = fator de correção para o ácido sulfúrico 0,1 mol/L

P1 = Massa da amostra, em gramas

$$PB\% = NT \times FN$$

Onde:

PB = proteína bruta, em percentagem

NT = teor de nitrogênio total na amostra, em percentagem

FN = fator de correção (6,25)

**Gordura:** Foram utilizados 2 g da amostra finamente moída em um cartucho de Soxhlet previamente preparado com papel filtro e algodão. Na sequência, o cartucho foi preenchido com algodão até cobrir toda a amostra. A estufa foi aquecida a 105 °C por 2 horas. Após o petróleo em ebulição, foi levado para resfriar em dessecador por 20-30 minutos e pesado. Em seguida, o cartucho foi colocado dentro do extrator Soxhlet. Conectou-se o extrator ao balão e adicionou-se 250 ml de éter de petróleo. Condensador foi conectado ao conjunto e ligada a chapa aquecedora, mantendo em aquecimento por 8 horas após início da fervura, com velocidade de gotejamento de 4 a 5 gotas por segundo. Foi retirado o conjunto, removendo-se, antes, o máximo de éter do balão. O balão foi levado a estufa a 105 °C por 1 hora. Após, foi resfriado em dessecador e pesado.

$$\text{Gordura (\%)} = \frac{PL \times 100}{P}$$

Onde:

PL = peso do balão com gordura – peso do balão antes da extração

P = peso da amostra

**Carboidrato:** a determinação dos carboidratos totais foi por diferença dos demais constituintes da composição centesimal (umidade, cinzas, proteínas e lipídios).

$$\text{Carboidrato} = 100 - [\text{umidade (\%)} + \text{cinzas (\%)} + \text{gordura (\%)} + \text{proteína bruta (\%)}]$$

#### 4.2.2 Composição mineral

A composição mineral foi realizada por meio da análise química - via úmida. As amostras, previamente trituradas em moinho tipo Wiley, foram pesadas (0,5000 g) e transferidas para tubos de teflon® e, em seguida, adicionados 8,0 mL de ácido nítrico e 3,0 mL de ácido clorídrico, ambos concentrados. Os tubos foram fechados e levados para o forno de micro-ondas (Marca CEM, modelo MarsXpress), onde a mistura foi deixada para reagir sob alta temperatura e pressão. As condições operacionais do forno foram: potência = 800 W; temperatura de 170 °C; tempo de rampa (Ramp) = 5 minutos; tempo sobre temperatura constante (hold) = 15 minutos.

Após o período de reação, aguardou-se o tempo necessário para o equilíbrio térmico dos tubos à temperatura ambiente. Em seguida, os tubos foram abertos em capela com sistema para exaustão de gases e os extratos foram filtrados para balões de PFA (Brand®) com capacidade de 50 mL e seu volume foi completado com água padrão ultrapuro (Milli-Q element,  $18 \text{ M}\Omega \text{ cm}^{-1}$ ). Os extratos obtidos foram, então, homogeneizados e transferidos para frascos plásticos previamente limpos para posterior análise.

Os teores de nutrientes nos extratos foram dosados em espectrofotômetro de emissão atômica com fonte de indução de plasma acoplada (ICP-OES marca Shimadzu Elmer, modelo ICPE 9000). Solução aquosa contendo 0,05% de Triton X-100 (detergente P.A.) e 5% de  $\text{HNO}_3$  foi utilizada como solução de limpeza entre cada leitura durante a dosagem no ICP-OES. Uma solução ‘multe elementar’ foi utilizada como controle para corrigir possíveis instabilidades do aparelho. Essa solução foi analisada periodicamente a cada 10 amostras, admitindo-se variação entre leituras de 90% a 110% da concentração do controle.

Para dosagem do teor de nitrogênio, foi realizada digestão por via úmida pelo método Kjeldahl. Este método quantifica o teor de nitrogênio total contido na amostra e utiliza o fator 6,25 para a conversão em proteína. Após oxidação da amostra com ácido sulfúrico na presença de mistura catalizadora ( $\text{CuSO}_4 + \text{H}_2\text{SO}_4$ ), foi realizada a solubilização com 0,2 g da amostra e 1,6 g da mistura catalítica contendo 500 g de sulfato de sódio ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) + 50 g de sulfato de cobre ( $\text{CuSO}_4$ ), sendo adicionados 5 ml de ácido sulfúrico ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) em tubos de ensaio para posterior digestão e submetidas a temperatura de  $400 \text{ }^\circ\text{C}$ . Durante esse processo de digestão, a solução passou de uma coloração escura para verde claro.

No processo de destilação, utilizou-se, para a mistura 20 g de ácido bórico, 5 ml do indicador (100 ml de álcool + 0,5 g de verde bromo cresol + 0,1 g de vermelho de metila) e, em seguida, foi completado com água Milli-Q em 1 L no balão volumétrico. Depois de homogeneizado, foram adicionados 15 ml da solução em Erlenmeyer de 50 ml. Posteriormente, preparou-se a solução que se utiliza nos destiladores, diluindo-se 400 g de hidróxido de sódio em 1 L de água. Na titulação, utilizou-se 0,8 ml de 1 Mol de HCL, cujo volume foi completado com água padrão ultrapuro (Milli-Q element,  $18 \text{ M}\Omega \text{ cm}^{-1}$ ).

### 4.2.3 Análise estatística

Após obtenção dos dados da composição centesimal e mineral, foram realizadas as análises de variâncias (ANOVA). Foi necessária a transformação do teor de carboidrato ( $\sqrt{x}$ ) para atender aos pressupostos da análise de variância. As variáveis que apresentaram diferenças significativas entre os genótipos pelo teste de F foram submetidas ao método de agrupamento de médias de Scott-Knott, considerando o nível de significância de 5%. As análises estatísticas foram processadas utilizando-se o software SAS 9.2 (SAS, 2009).

### 4.3 Resultados e Discussão

A análise de variância detectou diferença significativa ( $p < 5\%$ ) para os genótipos, indicando ampla variabilidade na composição centesimal e mineral (Tabela 1).

**Tabela 1** – Resumo da análise de variância para composição centesimal e mineral avaliadas em 49 genótipos de lentilhas (48 linhagens e a cultivar comercial Silvina).

FV	Genótipos	Resíduo	Média	CV%
GL	48	98	-	-
<b>Composição centesimal</b>				
Umidade	1,85**	0,07	10,11	2,56
Cinzas	0,00**	0,00	1,03	2,40
Gordura	0,32**	0,00	0,69	6,00
Proteínas	26,33**	0,53	28,37	2,57
Carboidratos	0,11**	0,00	59,71	0,72
<b>Composição mineral</b>				
Fósforo	10543,15**	1392,53	415,21	8,98
Potássio	26742,70**	5535,88	879,32	8,46
Magnésio	54,40**	17,02	91,15	4,52
Enxofre	1707,33**	393,34	178,25	11,12
Ferro	8,89**	5,50	6,85	34,24
Manganês	0,85**	0,03	2,54	6,81
Zinco	1,52**	0,36	5,94	10,16
Molibdênio	0,03**	0,00	0,38	23,98
Boro	0,25**	0,00	0,61	14,68
Cobre	0,07**	0,012	0,52	21,01
Cálcio	421,15**	45,59	72,24	9,34

(1) GL=graus de liberdade; \*\* significativo a 5% de probabilidade; CV (%) = Coeficiente de Variação.

#### 4.3.1 Composição centesimal

Os teores de umidade encontrados para os genótipos de lentilha variaram de 6,66 a 12,24 %, sendo que o genótipo FLIP2009-5L apresentou o menor teor (Tabela 2). Esses teores estão dentro dos níveis aceitáveis conforme o comparativo com os dados literários tidos como referência (Tabela 4). Isah *et al.* (2018) encontraram 8,0 % de teor de umidade

em lentilhas comerciais. El-Sattar (2018) encontrou variação de 9,03 a 11,23 % em cinco cultivares de lentilha analisadas.

**Tabela 2** - Valores médios para umidade, cinzas, proteína (expressos em percentagem), gordura e carboidrato (expressos em g/100 g) de 49 genótipos de lentilha (48 linhagens e a cultivar comercial Silvina).

<b>Genótipos</b>	<b>Umidade</b>	<b>Cinzas</b>	<b>Proteína</b>	<b>Gordura</b>	<b>Carboidrato</b>
81S15	10,46d	1,07a	22,27g	0,84d	65,33a
FLIP90-25L	8,40g	1,02c	22,92g	0,53g	66,41a
FLIP2007-11L	10,20d	1,06b	22,69g	0,59g	65,45a
FLIP2007-16L	10,60d	1,08a	24,16f	0,54g	63,59b
FLIP2007-28L	10,96c	1,00c	21,94g	0,50g	67,10a
FLIP2007-42L	10,30d	1,07a	22,26g	0,54g	65,83a
FLIP2007-74L	10,30d	1,02c	30,64c	0,04k	58,27e
FLIP2007-75L	10,40d	1,05b	29,08d	0,76d	58,72d
FLIP2007-77L	10,36d	1,00c	29,70c	0,73e	58,18e
FLIP2008-2L	8,45g	1,00c	31,23b	0,65f	58,93d
FLIP2009-1L	10,43d	1,11a	30,17c	0,81d	57,46e
FLIP2009-2L	10,81c	1,09a	30,460c	0,92c	56,70f
FLIP2009-4L	10,32d	1,03c	31,26b	0,84d	56,53f
FLIP2009-5L	6,66h	0,99c	30,65c	0,22i	58,73d
FLIP2009-7L	10,43d	0,99c	26,72e	0,47h	61,37c
FLIP2009-9L	12,24a	1,05b	29,09d	0,41h	58,25e
FLIP2009-10L	10,25d	1,00c	27,52e	0,81d	60,41c
FLIP2009-11L	10,60d	0,99c	29,75c	0,83d	57,81e
FLIP2009-12L	10,51d	1,05b	28,86d	0,72e	58,85d
FLIP2009-13L	10,40d	1,03c	27,76e	0,65f	59,30d
FLIP2009-14L	9,71e	0,99c	29,94c	2,00a	57,83e
FLIP2009-15L	9,74e	1,00c	30,36c	0,98b	57,90e
FLIP2009-16L	9,89e	1,00c	29,46d	0,84d	58,79d
FLIP2009-17L	9,70e	1,05b	27,41e	0,74e	61,08c
FLIP2009-18L	9,74e	1,07a	29,43d	0,64f	59,11d
FLIP2009-19L	9,68e	1,00c	31,15b	0,88c	57,07f

Continuação...

Continuação Tabela 2

Genótipos	Umidade	Cinzas	Proteína	Gordura	Carboidrato
FLIP2009-25L	9,46f	1,05b	26,33e	1,95a	61,46c
FLIP2009-26L	9,89e	0,99c	27,48e	0,53g	61,09c
FLIP2009-27L	10,00d	1,00c	31,42b	0,70e	56,88f
FLIP2010-2L	9,24f	1,00c	29,38d	0,13j	59,53d
FLIP2010-8L	9,90e	1,00c	29,32d	0,39h	59,31d
FLIP2010-12L	10,14d	0,99c	34,68a	0,42h	53,76g
FLIP2010-19L	10,16d	1,01c	31,50b	0,63f	56,68f
FLIP2010-20L	10,22d	1,00c	29,48d	0,45h	58,84d
FLIP2010-21L	10,14d	1,04b	28,84d	0,55g	62,09b
FLIP2010-22L	10,18d	1,00c	27,15e	0,66f	61,00c
FLIP2010-23L	10,19d	1,07a	29,29d	0,63f	58,80d
FLIP2010-24L	10,11d	1,03c	27,18e	0,45h	55,88f
FLIP2010-27L	10,16d	1,07a	30,07c	0,56g	58,12e
FLIP2010-28L	11,48b	0,98c	29,39d	0,80d	57,27f
FLIP2010-29L	10,13d	0,97c	31,38b	0,78d	56,72f
FLIP2010-30L	11,06c	1,00c	20,79h	0,78d	66,36a
FLIP2010-31L	10,25d	1,03b	31,28b	0,84d	56,66f
FLIP2010-32L	10,12d	1,04b	29,15d	0,56g	59,12d
FLIP2010-99L	10,15d	1,08a	29,89c	0,67f	58,19e
FLIP2010-100L	10,02d	1,04b	28,80d	0,75e	59,38d
FLIP2010-106L	10,22d	0,99c	25,08f	0,55g	63,15b
SILVINA	10,02d	1,07a	27,20e	0,82d	60,87c
6031	10,24d	1,08a	28,42d	0,64f	59,60d

<sup>1</sup>Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de médias de Scott-Knott ( $p < 5\%$ ).

<sup>2</sup>Dados do teor de carboidrato foram transformados por  $\sqrt{x}$ , porém foram apresentados, na tabela, os dados originais seguidos pelas letras dos dados transformados.

<sup>3</sup> Todos os parâmetros são expressos com base na matéria seca.

Em relação à quantidade de cinzas totais, os teores variaram de 0,97% a 1,11%, valores abaixo da média geral expressa na literatura de referência (Tabela 3). Segundo Hall *et al.*, (2017), o conteúdo de cinzas em leguminosas é muito afetado pelas condições de cultivo e ambiente, sendo importante levar em consideração, também, a composição mineral do solo.

O teor médio de gordura foi de 0,69 g/100 g. Zia-Ul-Haq *et al.* (2011) obtiveram valores entre 1,93 g/100 g e 2,15 g/100 g, condizente com o maior valor encontrado entre os genótipos avaliados neste estudo (2,00 g/100 g). A tabela brasileira de composição de alimentos (NEPA, 2011) apresenta teor de gordura para lentilha crua de 0,8 g/100 g. Maiores teores de gordura são encontrados em sementes, principalmente em espécies oleaginosas, tubérculos e em algumas frutas, com valores que podem ultrapassar 60 g/100 g, como o caso da castanha-do-brasil (SOMERVILLE *et al.*, 2000). O conteúdo médio de gordura encontrado em outras pulses como grão-de-bico e ervilha seca mostra variações de 0,54 a 0,79 g/100 g e 0,08 a 0,35 g/100 g, respectivamente (NPGA, 2018).

O teor proteico obtido (média de 28,37%) é considerado elevado, sendo superior ao divulgado pelo relatório da NPGA (2018), que mostrou valor de 24,3% para lentilhas, semelhante a outros resultados da literatura (Tabela 3). O genótipo FLIP2010-12L apresentou alto conteúdo proteico (34,68%). Treze genótipos apresentaram variação entre 30,07% e 31,50%; os demais genótipos apresentaram teores de 20,79% a 29,94% (Tabela 2). El-Sattar (2018) encontrou variação no teor médio de proteína (23,10% a 25,55%) em cinco cultivares comerciais de lentilha. Esses valores estão na mesma faixa encontrada por Santos e Boiteux (2013) em linhagens de feijão-caupi, com conteúdo de proteína variando entre 22,5% e 34,1%. Outras leguminosas de grão seco (*pulses*) mostraram valores médios abaixo do obtido neste estudo.

Goswami e Shukla (2019) avaliaram a qualidade nutricional de variedades melhoradas de ervilha e obtiveram variação no teor de proteína entre 16,14% e 20,32%. Kaur *et al.* (2019) obtiveram conteúdo médio de proteína em grão-de-bico tipo desi de 25,31% e 24,67% no tipo kabuli.

**Tabela 3** – Valores de referência para composição centesimal da lentilha crua.

Composição centesimal	Lentilha crua	Referências
Umidade (%)	11,5	NEPA (2011)
Cinzas (%)	2,2 – 6,4	GRUSAK (2009) ZIA-UL-HAQ <i>et al.</i> (2011) NEPA (2011) CAI; McCURDY; BAIK (2002) BAMDAD; DOKHANI; KERAMAT (2009)
Proteínas (%)	23 – 31,4	FOUAD; REHAB (2015) GHUMMAN; KAUR; SINGH (2016) GRUSAK (2009) KHAZAEI <i>et al.</i> (2019) NEPA (2011) GRUSAK (2009)
Gorduras (g/100 g)	0,3 – 2,15	ZIA-UL-HAQ <i>et al.</i> (2011) NEPA (2011) CARLSSON; KARLSSON; SANDBERG (1992) CAI; McCURDY; BAIK (2002)
Carboidratos (g/100 g)	42 – 74,9	FRIAS; DOUBLADO; VIDAL-VALVERDE (2003) WANG; DAUN (2006) COSTA <i>et al.</i> (2006) WANG <i>et al.</i> (2009) GRUSAK (2009) KARACA; NICKERSON; LOW (2011) FOUAD; REHAB (2015) GHUMMAN; KAUR; SINGH (2016) NEPA (2011)

Variações no teor de proteínas dos grãos podem ser reflexo tanto de alterações do ambiente como do genótipo (POPELKA; TERRY; HIGGINS, 2004). No entanto, vários autores sugerem haver baixa interação genótipo x ambiente (G x A) relacionada ao conteúdo de proteína e aminoácidos em lentilhas (BARULINA, 1930; BHATTY *et al.*, 1976; STODDARD *et al.*, 1993; LIZARAZO *et al.*, 2015). Isso reforça a hipótese de que a capacidade de fixação de nitrogênio torna a concentração de proteínas relativamente estável em diferentes ambientes (STODDARD *et al.*, 1993).

De tal modo, faz-se necessário o emprego de inoculantes específicos para a espécie, seja a estirpe de *Bradyrhizobium japonicum* – CPAC L-3 e CPAC L-12 (MENDES; REIS JUNIOR; HUNGRIA, 2010) – adaptada ao Cerrado, seja a estirpe selecionada de *Methylobacterium* spp. que promoveu a melhoria da absorção de nutrientes pela lentilha em condições de seca (JORGE, 2018), podendo influenciar diretamente o teor de proteínas obtido.

Em relação aos carboidratos, os genótipos apresentaram valores entre 59,60 e 65,33 g/100 g (Tabela 2), com média de 59,71 g/100 g (Tabela 1) confirmando ser esse alimento uma boa fonte energética.

### **4.3.2 Teores de minerais**

#### **4.3.2.1 Macronutrientes**

Dentro da composição dos macronutrientes (Tabela 4), os genótipos apresentaram teores médios de fósforo de 415,21 mg/100 g. Os genótipos FLIP 2007-74L e FLIP 2007-75L apresentaram os maiores teores para fósforo (575 e 541 mg/100 g), enquanto treze genótipos apresentaram os menores teores (367,33 a 298,66 mg/100 g). Laghetti *et al.* (2008) analisaram variedades locais de lentilhas italianas e encontraram concentrações que variaram de 405,4 mg/100 g a 542,4 mg/100 g. Alghamdi *et al.* (2014), avaliando 35 genótipos de lentilha, encontraram teores variando de 286,9 mg/100 g a 546,7 mg/100 g.

Com relação ao teor médio de potássio, o valor de 879,32 mg/100 g é semelhante aos encontrados na literatura (KUMAR *et al.*, 2018; ALGHAMDI *et al.*, 2014; LAGHETTI *et al.*, 2008). Destaque para o genótipo FLIP2009-4L (1068,37 mg/100 g) que apresentou o maior conteúdo de potássio neste estudo.

Quanto ao nível de magnésio, o teor médio encontrado foi de 91,15 mg/100 g. El-Sattar (2018) encontrou teor médio de 111,6 mg/100 g em cinco variedades comerciais de lentilha. Alghamdi *et al.* (2014) encontraram valores para magnésio variando de 126,1 mg/100 g a 157,3 mg/100 g. Karakoy *et al.* (2012) relataram valores entre 85 mg/100 g e 126 mg/100 g.

O enxofre é essencial para fixação de nitrogênio atmosférico, visando atender às necessidades das plantas leguminosas (MAHLER, 2015). Relativo à dieta humana, o enxofre, assim como o nitrogênio, é adquirido na forma de aminoácidos como cisteína e metionina (GRUSAK, 2009; KHAZAEI, 2019). FLIP2007-75L apresentou teores de enxofre (231,56 mg/100 g) semelhantes ao relatado por Kesli e Adak (2012), que avaliaram grãos produzidos com fertilizantes a base de enxofre.

O teor médio de cálcio foi de 72,24 mg/100 g, dentro da faixa relatada por Grusak (2009), variando de 42 mg/100 g a 165 mg/100 g, bem como por Karakoy *et al.* (2012), de 48 mg/100 g a 128 mg/100 g, e por Alghamdi *et al.* (2014), de 64,9 mg/100 g a 84,8 mg/100 g. O genótipo FLIP2010-19L apresentou o maior teor de cálcio (119,03 mg/100

g). De acordo com FAO (2004) e Brasil (2003), a ingestão diária recomendada (IDR) de minerais pode variar conforme a idade da pessoa, entre outras condições, como lactente, mas, em média, as recomendações são: cálcio (1000 mg); fósforo (700 mg); potássio (3510 mg); magnésio (260 mg).

**Tabela 4** – Valores médios (mg/100g) para os teores de minerais fósforo (P), potássio (K), magnésio (Mg), enxofre (S), cálcio (Ca), manganês (Mn), ferro (Fe), molibdênio (Mo), zinco, cobre (Cu) e boro (B), em 49 genótipos de lentilha (48 linhagens e a cultivar comercial Silvina).

<b>Genótipos</b>	<b>P</b>	<b>K</b>	<b>Mg</b>	<b>S</b>	<b>Ca</b>	<b>Mn</b>	<b>Fe</b>	<b>Mo</b>	<b>Zn</b>	<b>Cu</b>	<b>B</b>
81S15	463,83c	1018,37a	94,43a	206,23a	67,37c	2,52e	8,23a	0,37c	6,16a	0,51c	0,51f
FLIP90-25L	488,50b	960,04a	99,26a	225,90a	79,03b	2,81c	6,13a	0,52a	6,77a	0,68b	0,68e
FLIP2007-11L	487,50b	991,70a	95,76a	219,73a	77,87b	3,27b	6,25a	0,40c	5,69b	0,63b	0,65e
FLIP2007-16L	491,00b	995,042a	88,93b	198,06a	76,37b	2,83c	7,83a	0,32c	5,71b	0,57b	0,57f
FLIP2007-28L	508,66b	1005,04a	92,26a	209,73a	80,20b	1,66g	6,44a	0,59a	6,76a	0,80a	1,60b
FLIP2007-42L	465,16c	935,04a	96,43a	214,90a	74,03b	2,80c	8,24a	0,43b	6,29a	0,53c	0,52f
FLIP2007-74L	541,00a	973,37a	95,26a	219,23a	82,20b	3,58a	6,87a	0,41c	6,59a	0,70b	0,48f
FLIP2007-75L	575,00a	976,70a	96,26a	231,56a	74,70b	2,83c	6,33a	0,37c	6,99a	0,82a	0,51f
FLIP2007-77L	481,66b	995,04a	96,59a	220,23a	74,20b	2,36e	5,16a	0,53a	6,77a	0,87a	0,76e
FLIP2008-2L	478,50b	900,04a	95,09a	201,23a	84,03b	2,39e	6,84a	0,57a	6,42a	0,79a	0,58f
FLIP2009-1L	410,00d	951,70a	96,59a	173,40b	60,20d	2,46e	5,43a	0,37c	5,73b	0,64b	0,40g
FLIP2009-2L	448,50c	1010,04a	95,76a	186,40a	68,70c	3,03c	3,35a	0,37c	7,59a	0,79a	0,58f
FLIP2009-4L	436,33c	1068,37a	93,43a	199,56a	65,37c	2,72d	5,24a	0,32c	6,89a	0,67b	0,63e
FLIP2009-5L	402,83d	868,37a	90,09b	189,90a	87,87b	1,68g	8,02a	0,46b	6,49a	0,67b	0,70e

Continuação...

Continuação Tabela 4

<b>Genótipos</b>	<b>P</b>	<b>K</b>	<b>Mg</b>	<b>S</b>	<b>Ca</b>	<b>Mn</b>	<b>Fe</b>	<b>Mo</b>	<b>Zn</b>	<b>Cu</b>	<b>B</b>
FLIP2009-7L	419,50c	905,04a	93,93a	198,23a	73,87b	2,46e	4,63a	0,37c	7,04a	0,60b	0,43g
FLIP2009-9L	453,33c	908,37a	90,69b	175,90b	84,70b	1,46g	4,15a	0,55a	6,11a	0,46c	1,90a
FLIP2009-10L	429,33c	905,042a	92,43a	186,56a	84,20b	2,31e	3,50a	0,57a	6,86a	0,55c	0,71e
FLIP2009-11L	340,50e	763,37b	88,76b	157,40b	69,87c	2,20f	8,06a	0,26c	6,07a	0,28d	0,72e
FLIP2009-12L	388,83d	746,70b	84,43b	154,56b	67,87c	2,36e	10,79a	0,32c	5,45b	0,44c	0,37g
FLIP2009-13L	370,50d	836,70b	90,76b	171,06b	70,20c	2,65d	5,25a	0,36c	5,82b	0,45c	0,43g
FLIP2009-14L	404,83d	930,04a	92,93a	166,90b	67,03c	2,24f	9,10a	0,40c	5,54b	0,44c	0,55f
FLIP2009-15L	353,50e	836,70b	88,59b	165,56b	66,37c	2,95c	8,20a	0,44b	5,29b	0,42c	0,60e
FLIP2009-16L	392,50d	740,04b	93,43a	170,06b	75,37b	2,91c	5,71a	0,33c	6,77a	0,46c	0,41g
FLIP2009-17L	451,16c	881,70a	94,93a	173,90b	61,37c	2,03f	7,48a	0,34c	5,59b	0,40c	0,44g
FLIP2009-18L	357,16e	793,37b	85,59b	173,06b	57,70d	2,28f	7,11a	0,27c	5,23b	0,27d	0,40g
FLIP2009-19L	298,66e	655,04b	88,59b	145,40b	64,37c	2,64d	6,60a	0,30c	5,40b	0,17d	0,63e
FLIP2009-25L	360,00e	878,37a	86,43b	168,06b	86,20b	2,16f	9,13a	0,67a	6,16a	0,63b	0,66e
FLIP2009-26L	337,00e	740,04b	83,76b	162,23b	54,53d	2,19f	7,31a	0,26c	5,02b	0,31d	0,34g
FLIP2009-27L	343,33e	758,37b	91,59a	155,23b	64,03c	2,49e	9,37a	0,43b	5,47b	0,33d	0,48f

Continuação...

Continuação Tabela 4

<b>Genótipos</b>	<b>P</b>	<b>K</b>	<b>Mg</b>	<b>S</b>	<b>Ca</b>	<b>Mn</b>	<b>Fe</b>	<b>Mo</b>	<b>Zn</b>	<b>Cu</b>	<b>B</b>
FLIP2010-2L	424,00c	916,70a	83,09b	147,23b	66,87c	2,58d	6,29a	0,30c	4,63b	0,38d	0,58f
FLIP2010-8L	454,66c	953,37a	94,26a	159,90b	85,37b	3,06c	8,46a	0,32c	5,19b	0,61b	0,50f
FLIP2010-12L	454,66c	928,37a	91,59a	162,23b	77,20b	2,87c	7,08a	0,35c	5,11b	0,56b	0,49f
FLIP2010-19L	439,66c	873,37a	95,09a	177,90b	119,03a	2,38e	6,27a	0,42b	5,81b	0,69b	0,72e
FLIP2010-20L	388,50d	843,37b	93,76a	166,06b	81,03b	3,57a	8,96a	0,37c	5,44b	0,61b	0,53f
FLIP2010-21L	384,33d	836,70b	86,93b	173,73b	55,53d	2,66d	6,62a	0,28c	5,52b	0,45c	0,37g
FLIP2010-22L	455,83c	915,04a	88,43b	200,40a	61,53c	1,59g	7,00a	0,37c	6,47a	0,48c	0,45g
FLIP2010-23L	404,66d	966,70a	92,26a	190,40a	80,03b	2,93c	6,94a	0,33c	6,01a	0,47c	0,56f
FLIP2010-24L	375,00d	925,04a	93,59a	174,23b	76,20b	3,20b	7,61a	0,40c	6,27a	0,48c	0,50f
FLIP2010-27L	419,50c	906,70a	99,76a	168,90b	78,37b	3,32b	5,98a	0,42b	6,82a	0,73a	0,57f
FLIP2010-28L	440,33c	893,37a	91,59a	167,56b	80,20b	1,73g	10,20a	0,46b	6,97a	0,72a	1,32c
FLIP2010-29L	347,83e	696,70b	84,76b	135,90b	65,03c	2,76d	8,30a	0,20c	4,51b	0,47c	0,54f
FLIP2010-30L	450,33c	923,37a	89,93b	181,56b	78,03b	1,44g	7,40a	0,44b	6,07a	0,44c	0,70e
FLIP2010-31L	412,50d	810,04b	88,76b	168,23b	64,70c	2,51e	8,34a	0,30c	5,48b	0,41c	0,47f
FLIP2010-32L	367,33e	776,70b	86,43b	175,73b	52,20d	2,47e	8,78a	0,30c	5,72b	0,59b	0,49f

Continuação...

Continuação Tabela 4

<b>Genótipos</b>	<b>P</b>	<b>K</b>	<b>Mg</b>	<b>S</b>	<b>Ca</b>	<b>Mn</b>	<b>Fe</b>	<b>Mo</b>	<b>Zn</b>	<b>Cu</b>	<b>B</b>
FLIP2010-99L	350,50e	856,70b	87,26b	145,06b	59,03d	2,39e	3,26a	0,23c	5,60b	0,35d	0,52f
FLIP2010-100L	341,16e	791,70b	86,59b	150,40b	81,70b	3,76a	4,97a	0,36c	5,33b	0,35d	0,97d
FLIP2010-106L	378,33d	798,37b	87,93b	139,40b	62,87c	2,07f	5,96a	0,27c	5,23b	0,34d	0,52f
SILVINA	334,66e	818,37b	83,76b	174,40b	50,53d	2,17f	4,99a	0,24c	4,64b	0,45c	0,40g
6031	343,00e	728,37b	87,43b	155,06b	64,70c	2,86c	5,41a	0,38c	5,82b	0,40c	0,38g

<sup>1</sup>Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de médias de Scott Knott (p< 5%).

<sup>2</sup>Todos os parâmetros são expressos com base na matéria seca.

Esses macronutrientes são essenciais para a saúde humana, pois fazem parte de várias reações no organismo, a exemplo do fósforo, que participa do metabolismo energético, da absorção e do transporte de nutrientes, bem como da regulação da atividade proteica e do balanço acidobásico (FAO, 2004). Recomenda-se um aumento na ingestão de potássio dos alimentos para reduzir a pressão arterial e o risco de doenças cardiovasculares, derrames e doenças coronárias em adultos (WHO, 2012). Contudo, diferenças observadas nos valores obtidos, quando comparados com resultados diversos da literatura, devem ser ponderadas, pois podem ter influência de fatores como sistema de cultivo, adubação, período de colheita e variabilidade dentro da mesma espécie.

#### **4.3.2.2 Micronutrientes**

Os micronutrientes, também conhecidos como microelementos ou elementos-traço, são considerados tão essenciais como as vitaminas. O conteúdo médio de manganês observado foi de 2,54 mg/100 g e se encontra dentro do intervalo obtido por Zia-Ul-Haq *et al.* (2011), Leshe e Tessema (2014) e Kumar *et al.* (2018). Para o conteúdo de ferro, foi encontrado teor médio de 6,85 mg/100 g cujo resultado se encontra abaixo do relatado por Leshe e Tessema (2014), variando de 9,17 a 11,91 mg/100 g, mas se assemelha à faixa encontrada na literatura relatada por Grusak (2009) de 3,1 mg/100 g a 13,3 mg/100 g.

Para os demais micronutrientes, Grusak (2009) determinou as seguintes faixas de concentração (também encontradas por outros autores): Mo (0,08 mg/100 g a 0,22 mg/100 g), Zn (2,3 mg/100 g a 10,2 mg/100 g), Cu (0,4 mg/100 g a 9,9 mg/100 g) e B (0,6 mg/100 g a 1 mg/100 g). Todos os valores referentes aos micronutrientes obtidos no presente trabalho encontram-se dentro do intervalo supracitado. A recomendação dietética de zinco para adultos é de 8 mg por dia para mulheres e 11 mg por dia para homens (TRUMBO *et al.*, 2001).

Todos os teores obtidos neste estudo foram adequados para atender à demanda de macro e micronutrientes da dieta humana. Contudo, esses genótipos podem ser mais bem investigados em trabalhos futuros que envolvam estudos comparativos sobre os mecanismos químicos (fatores antinutricionais e antioxidantes), genéticos e ambientais, assim como avaliar se o aumento de um mineral influencia na concentração de outro e a biodisponibilidade.

## Conclusão

Os genótipos de lentilha avaliados apresentaram teores médios de composição centesimal e minerais considerados adequados para a espécie. Tais resultados são um demonstrativo de sua marcante variabilidade para essas características e potencial de seleção das de maior importância. Nesse sentido, os genótipos FLIP2007-28L, FLIP2007-75L, FLIP2009-1L, FLIP2009-2L, FLIP2009-4L, FLIP2009-9L, FLIP2009-12L, FLIP2009-14L, FLIP2009-25L, FLIP2010-12L, FLIP2010-19L, FLIP2010-27L, FLIP2010-100L apresentaram os melhores teores e podem ser indicados para ampliação de bases genéticas e uso na linha do programa de biofortificação de cultivares de lentilha.

## Referências

ALGHAMDI, S.S.; KHAN, A.M.; AMMAR, M.H.; EL-HARTY, E.H.; MIGDADI, H.M.; EL-KHALIK, S.M.A.; AL-SHAMERI, A.M.; JAVED, M.M.; AL-FAIFI, S.A. Phenological, nutritional and molecular diversity assessment among 35 introduced lentil (*Lens culinaris* Medik.) genotypes grown in Saudi Arabia. **Int. J. Mol. Sci.**, v. 15, n. 1, p. 277-295, 2014.

AOAC – Association Official Analytical Chemists. **Official methods of analysis of AOAC**. 20 ed. Maryland: AOAC International, 2016.

BAMDAD, F., DOKHANI, S., KERAMAT, J. Functional assessment and subunit constitution of lentil (*Lens culinaris*) proteins during germination. **Int. J. Agric. Biol.**, v. 11, n. 6, p. 690-694, 2009.

BARULINA, H. Lentils of the U.S.S.R. and of other countries: A botanic-agronomical monograph. In: Bulletin of Applied Botany, of Genetics and Plant-Breeding; Leningrad Vsesoiuznaia akademiia sel'sko khoziaistvennyk im: Leningrad (St. Petersburg), Russia, **Suppl.** 40, pp. 1–319, 1930.

BHATTY, R.S.; SLINKARD, A.E.; SOSULSKI, F.W. Chemical composition and protein characteristics of lentils. **Can. J. Plant Sci.**, 56, 787–794, 1976.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução-RDC N° 360**, de 23 de dezembro de 2003. Trata de regulamento técnico da rotulagem nutricional de alimentos embalados. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-vegetal/legislacao-1/biblioteca-de-normas-vinhos-e-bebidas/resolucao-rdc-no-360-de-23-de-dezembro-de-2003.pdf/view>. Acesso em: 2 jul. 2021.

CAI, R.; McCURDY, A.; BAIK, B. K. Textural property of 6 legume curds in relation to their protein constituents. **J. Food Sci.** v. 67, 5 ed., p. 1725-1730, jun. 2002.

CARLSSON, N.G.; KARLSSON, H.; SANDBERG, A.S. Determination of oligosaccharides in foods, diets, and intestinal contents by high-temperature gas-chromatography and gas-chromatography mass-spectrometry. **J. Agric. Food. Chem.**, v. 40, n. 12, p.2404-2412, 1992.

COSTA, G.E.A; QUEIROZ, K. S.; REIS, M.S.M.P.; OLIVEIRA, A.C. Chemical composition, dietary fiber and resistant starch contents of raw and cooked pea, common bean, chickpea and lentil legumes. **Food Chem.**, v. 94, n. 3, p. 327-330, 2006.

COZZOLINO, S. M. F. Deficiência de minerais. **Estudos Avançados**, v. 21, n. 60, p. 119-126, 2007.

EL-SATTAR, A. Phytochemical compounds and antioxidant activity of some lentil genotypes grown in Egypt. **Menoufia Journal of Food and Dairy Sciences**, v. 3, n. 2, p. 27-36, 2018.

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Rede BioFORT. Disponível em: <https://www.embrapa.br/biofort>. Acesso em: 24 jun. 2021.

FAO – Food and Agriculture Organization. FAO food and nutrition technical report series 1. Roma: FAO, 2004.

FARIS, M.A.I.E.; TAKRURI, H.R.; ISSA, A.Y. Role of lentils (*Lens culinaris* L.) in human health and nutrition: a review. **Mediterr J Nutr Metab**, v. 6, p. 3-16, 2013.

FOUAD, A. A.; REHAB, F. M.A. Effect of germination time on proximate analysis, bioactive compounds and antioxidant activity of lentil (*Lens culinaris* Medik.) sprouts. **Acta Sci. Pol. Technol. Aliment.**, v. 14, p. 233-246, 2015.

FRIAS, J.; DOUBLADO, R.; VIDAL-VALVERDE, C. Kinetics of soluble carbohydrates by action of endo/exo alpha-galactosidase enzyme in lentil and peas. **Eur. Food Res. Technol.**, v. 216, p.199-203, 2003.

GHUMMAN, A.; KAUR, A.; SINGH, N. Impact of germination on flour, protein and starch characteristics of lentil (*Lens culinaris*) e horsegram (*Macrotyloma uniflorum* L.) lines LWT. **Food. Sci. Technol.**, v. 65, p. 137-144, 2016.

GOSWAMI, K.; SHUKLA, P. Evaluation of improved varieties of field pea (*Pisum sativum*) for nutritional and functional quality. **International Journal of Chemical Studies**, v.7, n. 5, p. 2260-2266, 2019.

GRELA, E.R.; KICZOROWSKA, B.; SAMOLI NSKA, W.; MATRAS, J.; KICZOROWSKI, P.; RYBI NSKI, W.; HANCZAKOWSKA, E. Chemical composition of leguminous: Part I - Content of basic nutrients, amino acids, phytochemical compounds and antioxidant activity. **Eur. Food Res. Technol.**, v. 243, p. 1385-1395, 2017.

GRUSAK, M.A. Nutritional and health-beneficial quality. In: ERSKINE, W. *et al.* (editors). **The Lentil: Botany, production uses**. Cambridge: CAB International, 2009. p. 368-390.

HALL, C.; HILLEN, C.; ROBINSON J. G. Composition, nutritional value, and health benefits of pulses. **Cereal Chem.** v. 94, n° 1, p. 11-31, 2017.

ISAH, L.; ABRAHAM, E.A.; ABUBAKAR, I.; BAWA, A. Nutritional potential of lentils (*Lens culinaris* Medik) grown in Northwestern Nigeria. **INOSR Scientific Research**, v. 4, n.1, p. 13-18, 2018.

JHA, A.B.; WARKENTIN, T.D. Biofortification of pulse crops: status and future perspectives. **Plants**, v. 9, n. 1, p. 73, 2020.

JORGE, G.L. **Selection of soybean lines under biotic stresses and endophytic bacteria as an alleviating factor of drought during lentil cultivation**. 2018. 77 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2018. Disponível em: <https://repositorio.ufu.br/handle/123456789/21911>.

KARACA, A.C.; NICKERSON, M.T.; LOW, N.H. Lentil and Chickpea Protein-Stabilized Emulsions: Optimization of Emulsion Formulation. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, n.24, p.13203-13211, 2011.

KARAKOY, T.; ERDEM, H.; BALOCH, F.S.; TOKLU, F.; EKER, S.; KILIAN, B. Diversity of macro and micronutrients in the seeds of lentil landraces. **The Scientific World Journal**, v. 2012, article ID 710412, set. 2012.

KAUR, K.; GREWAL, S.K.; GILL, P.S.; SINGH, S. Comparison of cultivated and wild chickpea genotypes for nutritional quality and antioxidant potential. **J. Food Sci Technol.**, v. 56, p. 1864-1876, 2019.

KESLI, Y.; ADAK, S.M. Effects of different harvest time and sulfur fertilization on amino acid composition of lentil. **Journal of plant nutrition**, v. 35, 11 ed., 2012.

KHAZAEI, H.; SUBEDI, M.; NICKERSON, M.; MARTÍNEZ-VILLALUENGA, C.; FRIAS, J.; VANDENBERG, A. Seed Protein of Lentils: Current Status, Progress, and Food Applications. **Foods**, v.8, n.9, p. 3-23, 2019.

KUMAR, S.; CHOUDHARY, A.K.; RANA, K.S.; SARKER, A.; SINGH, M. Biofortification potential of global wild annual lentil core collection. **Plos One**, v. 13, n.1, 2018.

LAGHETTI, G.; PIERGIOVANNI, A.R.; SONNANTE, G.; LIOI, L.; PIGNONE, D. The Italian lentil genetic resources: a worthy basic tool for breeders. **The European Journal of Plant Science and Biotechnology**, v. 2, n. 1, p. 48-59, 2008.

LESHE, S.; TESSEMA, M. Determination of levels of essential and toxic heavy metals in lentil (*Lens culinaris* Medik) by flame atomic absorption spectroscopy. **Afr. J. Chem. Edu.**, v. 4, n. 4, p. 16-34, 2014.

LIZARAZO, C.I.; LAMPI, A.M.; LIU, J.; SONTAG-STROHM, T.; PIIRONEN, V.; STODDARD, F.L. Nutritive quality and protein production from grain legumes in a boreal climate. **J. Sci. Food Agric.**, 95, 2053–2064, 2015.

LOUREIRO, M.P.; CUNHA, L.R.; NASTARO, B. T.; PEREIRA, K. Y. S.; NEPOMOCENO, M.L. Biofortificação de alimentos: problema ou solução? **Segur. Aliment. Nutr.**, v. 25, n. 2, p. 66-84, 2018.

MAHLER, R.L. **Northern Idaho Fertilizer Guide – CIS1083**. Idaho: Universidade de Idaho, 2015. Disponível em: <https://www.extension.uidaho.edu/publishing/pdf/CIS/CIS1083.pdf>. Acesso em: 2 jul. 2021.

MENDES, I.C.; REIS JUNIOR, F.B.; M.; HUNGRIA, M. **20 perguntas e respostas sobre fixação biológica de nitrogênio**. Brasília: Embrapa Cerrados, 2010. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/883833/20-perguntas-e-respostas-sobre-fixacao-biologica-de-nitrogenio>. Acesso em: 2 jul. 2021.

NPGA – Northern Pulse Growers Association. **Pulse Quality Survey 2018**. Online publication. Disponível em: <https://northernpulse.com/uploads/7/2018U.S.PulseQualitySurveyprintonly.pdf>. Acesso em: 11 jun. 2019.

NOSWORTHY, M.G.; NEUFELD, J.; FROHLICH, P.; YOUNG, G.; MALCOLMSON, L.; HOUSE, J.D. Determination of protein quality of cooked Canadian legumes. **Food Sci. Nutr.**, v. 5, p. 896-903, 2017.

NEPA – Núcleo de Estudos e Pesquisas em Alimentação. Unicamp – Universidade Estadual de Campinas. **Tabela brasileira de composição de alimentos (TACO)**. 4 ed. São Paulo: NEPA/Unicamp, 2011. Disponível em: [https://www.cfn.org.br/wp-content/uploads/2017/03/taco\\_4\\_edicao\\_ampliada\\_e\\_revisada.pdf](https://www.cfn.org.br/wp-content/uploads/2017/03/taco_4_edicao_ampliada_e_revisada.pdf). Acesso em: 2 jul. 2021.

POPELKA, J. C.; TERRY, N.; HIGGINS, T. J. V. Gene technology for grain legumes: can it contribute to the food challenge in developing countries? **Plant Science**, v. 167, p. 195–206, 2004.

RAWAL, V.; CHARRONDIERE, R.; XIPSITI, M.; GRANDE, F. Pulses: nutritional benefits and consumption patterns. In: RAWAL, V.; NAVARRO, D.K. (eds.). **The global economy of pulses**. Roma: FAO, 2019. p.9-19.

RIOS, S.A.; ALVES, K.R.; COSTA, N.M.B.; MARTINO, H.S.D. Biofortificação: culturas enriquecidas com micronutrientes pelo melhoramento genético. **Rev. Ceres**, Viçosa, v. 56, n.6, p. 713-718, nov./dez., 2009.

RUBERT, A.; ENGEL, B.; ROHLFES, A. L. B.; MARQUARDT, L.; MONTE BACCAR, N. Vitaminas do complexo B: uma breve revisão. **Revista Jovens Pesquisadores**, v. 7, n. 1, p. 30-45, 2017.

SAS – Statistical Analysis System. **SAS System for Windows version 9.2**. North Carolina: SAS Intitute Inc., 2009.

SANTOS, C. A. F.; BOITEUX, L. S. Breeding biofortified cowpea lines for semi-arid tropical areas by combining higher seed protein and mineral levels. **Genetics and Molecular Research**, v. 12, n.4, p. 6782-6789, 2013.

SOMERVILLE, C. C.; BROWSE, J.; JAWORSKI, J. G.; OHLROGGE, J. B. Lipids. In: BUCHANAN, B. B.; GRUISSEM, W.; JONES, R. L. (eds.). **Biochemistry & molecular biology of plants**. Rockville: American Society of Plant Physiologists, 2000. p.456-458.

STODDARD, F.L.; MARSHALL, D.R.; ALI, S.M. Variability in grain protein concentration of peas and lentils grown in Australia. **Aust. J. Agric. Res.** 44, 1415–1419, 1993.

TRUMBO, P.; YATES, A.A.; SCHLICKER, S.; POOS, M. Dietary reference intakes: vitamin A, vitamin K, arsenic, boron, chromium, copper, iodine, iron, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium, and zinc. **J Am Diet Assoc.**, v.101, n.3, p.294-301, 2001.

WANG, N.; DAUN, J. Effects of variety and crude protein content on nutrients and anti-nutrients in lentis (*Lens culinaris*). **Food Chem.**, v.95, p. 493-502, 2006.

WANG, N.; HATCHER, D.W.; TOEWS, R.; GAWALKO, E. J. Influence of cooking and dehulling on nutritional composition of several varieties of lentils (*Lens culinaris*). **LWT – Food Sci. Technol.**, v. 42, p.842-848, 2009.

WHO – World Health Organization. **Guideline:** Potassium intake for adults and children. Geneva: World Health Organization, 2012.

ZIA-ULHAQ, M.; AHMAD, S.; SHAD, M.A.; IQBAL, S.; QAYUM, M.; AHMAD, A.; AHMAD, M.; LUTHRIA, D. L.; AMAROWICZ, R. Compositional studies of lentil (*Lens culinaris* Medik.) cultivars commonly grown in Pakistan. **Pak J Bot.**, v. 43, n.3, p.1563-1567, 2011.

## 5 MELHORAMENTO GENÉTICO PREVENTIVO DE LENTILHA NO BRASIL VIA SELEÇÃO ASSISTIDA POR MARCADORES MOLECULARES LIGADOS AO LOCUS *F<sub>w</sub>* DE RESISTÊNCIA AO *Fusarium oxysporum* f. sp. *lentis*

### Resumo

A murcha de fusário (causada pelo fungo *Fusarium oxysporum* f. sp. *lentis*) é uma das principais doenças que acometem a cultura da lentilha (*Lens culinaris*) no mundo. Esse patógeno de solo pode ser transmitido por sementes e já se encontra amplamente disseminado em países vizinhos do Brasil tais como Argentina e Uruguai. O método mais eficaz de controle dessa doença é o emprego de cultivares com resistência genética. No entanto, a murcha de fusário ainda é uma doença quarentenária sem registro no Brasil o que impede a utilização de ensaios de avaliação da resistência genética no campo ou em casa de vegetação com propágulos do patógeno. Desta forma, o estabelecimento de um programa de melhoramento genético preventivo (com o auxílio de marcadores moleculares) se torna a principal estratégia para desenvolvimento de cultivares de lentilha adaptadas ao Brasil e com resistência a murcha de fusário. Para tal, tem sido empregado sistemas de seleção assistida por marcadores moleculares ligados ao gene de resistência dominante *F<sub>w</sub>*. No presente trabalho, dois marcadores moleculares ligados ao locus *F<sub>w</sub>* foram utilizados para identificar acessos de lentilha potencialmente resistentes ao *F. oxysporum* f. sp. *lentis*. Foram utilizados o marcador RAPD OPK-15<sub>900</sub> (dominante, ligado em fase de repulsão) e o marcador microssatélite SSR 59-2 (de herança co-dominante, ligado em fase de acoplamento). Foram avaliados 48 acessos da coleção do ICARDA e a cultivar comercial 'Silvina'. A resistência ou suscetibilidade foi corroborada pela visualização de bandas de DNA em gel de agarose. Os acessos 81S15, FLIP2007-16L, FLIP2007-42L, FLIP2007-74L, FLIP2007-75L, FLIP2009-1L, FLIP2009-2L, FLIP2009-7L, FLIP2009-9L, FLIP2009-10L, FLIP2009-11L, FLIP2009-18L, FLIP2009-19L, FLIP2009-25L, FLIP2009-27L, FLIP2010-19L, FLIP2010-21L, FLIP2010-22L, FLIP2010-23L, FLIP2010-24L, FLIP2010-28L, FLIP2010-29L, FLIP2010-100L apresentaram padrões eletroforéticos que os caracterizam como sendo portadores do gene de resistência *F<sub>w</sub>*. Por sua vez, os acessos FLIP2007-11L, FLIP2007-77L, FLIP2008-2L, FLIP2009-5L, FLIP2009-17L, FLIP2010-8L, FLIP2010-12L, FLIP2010-20L, FLIP2010-27L, FLIP2010-31L, FLIP2010-99L, FLIP2010-106L, 'Silvina' e 6031 mostraram padrões eletroforéticos associados com a suscetibilidade (= ausência do gene *F<sub>w</sub>*) ao *F. oxysporum* f. sp. *lentis*. Essa caracterização pode ser útil para guiar a escolha de materiais genéticos dentro dos programas de melhoramento genético da lentilha visando antecipar (via desenvolvimento de cultivares resistentes) o potencial problema do ingresso de isolados de *F. oxysporum* f. sp. *lentis* nos campos de cultivo do Brasil.

**Palavras-chave:** *Lens culinaris*, resistência genética, PCR, RAPD, SSR.

## Abstract

Fusarium wilt (caused by the fungus *Fusarium oxysporum* f. sp. *lentis*) is one of the main diseases affecting the lentil (*Lens culinaris*) crop worldwide. This soil pathogen can be transmitted by seeds and it is already widely disseminated in neighboring countries of Brazil such as Argentina and Uruguay. The most effective method of controlling this disease is the use of genetically resistant cultivars. However, Fusarium wilt is still an unregistered quarantine disease in Brazil, which prevents the use of bioassays with pathogen propagules to evaluate genetic resistance under field or greenhouse conditions. Thus, the establishment of preventive breeding programs (with molecular marker-assisted selection) becomes the main strategy for the development of lentil cultivars adapted to Brazil and resistant to fusarium wilt. For this purpose, assisted selection systems with molecular markers linked to the dominant resistance gene *Fw* were employed. In the present work, two molecular markers linked to the *Fw* locus were used to identify lentil accessions potentially resistant to *F. oxysporum* f. sp. *lentis*. The RAPD marker OPK-15<sub>900</sub> (dominant, linked in the repulsion phase) and the microsatellite marker SSR 59-2 (co-dominant inheritance, linked in the coupling phase) were used. Forty-eight accessions from the ICARDA collection and the commercial cultivar 'Silvina' were evaluated. Resistance or susceptibility was corroborated by visualization of DNA amplicons on agarose gels. The accessions 81S15, FLIP2007-16L, FLIP2007-42L, FLIP2007-74L, FLIP2007-75L, FLIP2009-1L, FLIP2009-2L, FLIP2009-7L, FLIP2009-9L, FLIP2009-10L, FLIP2009-11L, FLIP2009-18L, FLIP2009-19L, FLIP2009-25L, FLIP2009-27L, FLIP2010-19L, FLIP2010-21L, FLIP2010-22L, FLIP2010-23L, FLIP2010-24L, FLIP2010-28L, FLIP2010-29L, FLIP2010-100L displayed electrophoretic patterns that characterize them as being carriers of the *Fw* resistance gene. On the other hand, the accessions FLIP2007-11L, FLIP2007-77L, FLIP2008-2L, FLIP2009-5L, FLIP2009-17L, FLIP2010-8L, FLIP2010-12L, FLIP2010-20L, FLIP2010-27L, FLIP2010-31L, FLIP2010-99L, FLIP2010-106L, 'Silvina' and 6031 displayed electrophoretic patterns associated with susceptibility (= absence of the *Fw* gene) to *F. oxysporum* f. sp. *lentis*. The present characterization can be useful to guide the choice of genetic materials within the lentil breeding programs aiming to anticipate (via the development of resistant cultivars) the problem of the potential invasion of *F. oxysporum* f. sp. *lentis* isolates into the cultivated fields of Brazil.

**Keywords:** *Lens culinaris*, genetic resistance, PCR, RAPD, SSR.

## 5.1 Introdução

A lentilha (*Lens culinaris* Medik) compõe o grupo das *pulses* (grãos secos comestíveis), apresentando grande importância nas regiões produtoras quando se considera o seu impacto socioeconômico e o seu alto valor nutricional (CHOUDHARY; KUMAR, 2016). A produção mundial de lentilha é estimada em 5,7 milhões de toneladas, com rendimento médio de 1.195 kg.ha<sup>1</sup> (FAOSTAT, 2021). A lentilha é cultivada predominantemente por pequenos produtores e com baixo aporte tecnológico, sendo exposta a condições climáticas severas e a diversos fatores bióticos (CHOUDHARY; KUMAR, 2016). De fato, algumas doenças são consideradas como potenciais ameaças ao cultivo da lentilha em escala global (IQBAL *et al.*, 2019).

Dentre os principais patógenos, destaca-se o fungo de solo *Fusarium oxysporum* f. sp. *lentis* agente causal da murcha vascular (CHOUDHARY; KUMAR, 2016). Em condições favoráveis, essa doença pode ocasionar perdas superiores a 50% da produtividade (CHOUDHARY; KUMAR, 2016). O fungo *F. oxysporum* f. sp. *lentis* entra pela raiz da planta da lentilha, se estabelece no xilema e bloqueia o sistema vascular, impedindo o transporte de água e nutrientes. Os sintomas podem aparecer em todos os estágios de desenvolvimento, podendo ocasionar murcha, clorose e morte da planta (TIWARI *et al.*, 2018). A temperatura ótima para o desenvolvimento da doença é bem ampla, variando entre 20 e 30 °C (DOLATABADI *et al.*, 2011; MOHAMMADI *et al.*, 2012), tendo incidência e severidade mais acentuadas durante o período de verão chuvoso e, em menor escala, durante o período de inverno (PRAKASH; PANDEY, 2007). O fungo pode ser disseminado pelo vento, pela água, por meio de implementos agrícolas, partículas de solo e restos de culturas infestados. Os clamidósporos, estruturas de resistência de *F. oxysporum* f. sp. *lentis*, possibilitam a sobrevivência do fungo no solo por vários anos, mesmo na ausência da planta hospedeira (TAYLOR *et al.*, 2007). Sementes contaminadas são os principais veículos para disseminação do patógeno a longas distâncias (TAYLOR *et al.*, 2007).

O uso de fungicidas químicos e agentes de controle biológico são algumas das estratégias disponíveis de controle da murcha de fusário em lentilha (ARYA; KUSHWAHA, 2018; RAFIQUE *et al.*, 2016). No entanto, o controle via fungicidas tem seu uso limitado pelo custo elevado e baixa eficiência relativa. Neste cenário, o uso de cultivares resistentes torna-se a principal alternativa devido ao baixo custo, à facilidade de implementação e a quase ausência de impactos ao meio ambiente.

No Brasil, não há registro oficial de *F. oxysporum* f. sp. *lentis*, sendo considerada uma praga quarentenária (BRASIL, 2008). No entanto, o risco de introdução desse fungo no território nacional é iminente, com potenciais consequências negativas para a competitividade do agronegócio brasileiro desta leguminosa. Vários fatores podem favorecer os surtos epidêmicos deste patógeno nas condições brasileiras, incluindo o potencial avanço das áreas de plantio de lentilha no país, condições climáticas extremamente favoráveis para o desenvolvimento do fungo somados com a ocorrência já registrada da doença nos países fronteiriços, tais como Argentina e Uruguai (CHEN *et al.*, 2011). Para agravar a situação, cultivares resistentes adaptadas às condições brasileiras ainda não estão disponíveis.

A principal cultivar de lentilha utilizada nas condições brasileiras tem sido ‘Silvina’, que é classificada dentro do tipo macroesperma, apresentando cotilédone amarelo com produtividade superior à média mundial. No entanto, não existem disponíveis informações quanto à resistência de ‘Silvina’ ao fungo *F. oxysporum* f. sp. *lentis*. A cultivar ‘Precoz’ (= ILL 4605) tem sido bastante empregada para o cultivo no Cone Sul da América do Sul. No entanto, ‘Precoz’ é uma cultivar classificada como altamente suscetível ao fungo *F. oxysporum* f. sp. *lentis* (EUJAYL *et al.*, 1998). Recentemente, foram introduzidas pela Embrapa Hortaliças 48 linhagens elite de lentilha recombinantes derivadas de cruzamentos entre parentais contrastantes quanto à resistência à murcha de fusário (LITP 2009/2010). Esse germoplasma foi introduzido do *International Center for Agricultural Research in the Dry Areas* – ICARDA, tendo como objetivo de disponibilizar fontes de resistência à murcha de fusário para os programas brasileiros de melhoramento genético de lentilha. A informação disponível na literatura indica que alguns acessos mantidos pelo ICARDA, tais como ‘ILL 5883’, ‘ILL 5588’, ‘ILL 4400’ e ‘ILL 590’, são derivados de um programa de melhoramento envolvendo múltiplos cruzamentos entre um amplo espectro de variedades resistentes à murcha de fusário (TIWARI *et al.*, 2018).

No entanto, o fato da murcha de fusário ser ainda uma doença quarentenária impede a utilização de bioensaios com propágulos do patógeno para avaliação da resistência de materiais genéticos em condições de campo ou casa de vegetação. Desta forma, o estabelecimento de um programa de melhoramento genético preventivo (*sensu* FERREIRA; RANGEL, 2015) se torna a principal estratégia para desenvolvimento de cultivares de lentilha adaptadas ao Brasil e com resistência a murcha de fusário. A seleção de genótipos com boas características agronômicas combinando bons níveis de resistência

a fitopatógenos quarentenários, são importantes para maximizar o uso dos recursos genéticos disponíveis (FERREIRA; RANGEL, 2015).

Diversas fontes de resistência a *F. oxysporum* f. sp. *lentis* já foram relatadas (BAYAA *et al.*, 1995; MOHAMMDI *et al.*, 2012; POURALIBABA *et al.*, 2015; CHOUDHARY; KUMAR, 2016). A herança do controle genético da resistência na linhagem ‘ILL 5588’ foi caracterizada como sendo monogênica e governada pelo gene dominante *Fw* (EUJAYL *et al.*, 1998). Marcadores moleculares do tipo RAPD (*Randomly Amplified Polymorphic DNA*) e SSR (*Simple Sequence Repeats*) foram descritos com distância de ligação de 10.8 cM e 8.0 cM, respectivamente, em relação ao gene *Fw* (HAMWIEH *et al.*, 2005; EUJAYL *et al.*, 1998).

Esses marcadores moleculares, por estarem ligados a esse locus de resistência, podem ser utilizados como ferramentas para identificar e/ou monitorar a presença do gene *Fw* dentro de programas de melhoramento preventivo via seleção assistida por marcadores moleculares em lentilha. Neste contexto, o objetivo do presente trabalho foi identificar a presença (ou não) de marcadores moleculares (RAPD e SSR) associados com o gene *Fw* na cultivar líder do mercado brasileiro (‘Silvina’) bem como em 48 linhagens elite de lentilha introduzidas do ICARDA.

## 5.2 Materiais e Métodos

### 5.2.1 Material genético

Folículos jovens da cultivar ‘Silvina’ e de 48 linhagens de lentilha recombinantes introduzidas do ICARDA (Tabela 1, capítulo 3) potencialmente portadores do gene *Fw* foram coletados e o DNA extraído utilizando-se CTAB e solventes orgânicos (BOITEUX *et al.* (1999).

### 5.2.2 Genotipagem de acessos de lentilha para marcadores moleculares ligados ao fator de resistência *Fw*

Foram utilizados dois sistemas de marcadores que amplificam regiões alvo ligadas ao locus *Fw* em lentilha. O primeiro marcador (OPK-15<sub>900</sub>) é derivado da amplificação usando o primer RAPD OPK-15 (Operon Technologies, Alameda, CA, USA). Este marcador apresenta herança dominante estando em fase de repulsão com o alelo de

resistência *Fw*. O segundo sistema de marcadores SSR amplifica dois amplicons microssatélites polimórficos denominados SSR59-2A (175 bp) e SSR59-2B (210 bp) ligados em fase de acoplamento com o locus *Fw* e apresentando herança co-dominante e dominante (EUJAYL *et al.* 1998; HAMWIEH *et al.* 2005), respectivamente (Tabela 2).

**Tabela 2** – Primers RAPD (OP-K15) e SSR (SSR 59-2) empregados para gerar marcadores moleculares ligados ao gene dominante *Fw* (= resistência a isolados *Fusarium oxysporum* f. sp. *lentis*) para monitorar sua presença em acessos de lentilha.

Marcador	Sequência dos primers	T (°C) <sup>1</sup>	Distância <sup>2</sup> (cM)
OPK - 15	5'-CTCCTGCCAA-3'	36	10.8
SSR 59-2	F <sup>3</sup> : (5'-CCAAATACTGCAACACACCG-3')	60	8.0
	R <sup>4</sup> : (5'-GTTCCCATCAGGCAGAAGG-3')		

<sup>1</sup>Temperatura de anelamento dos primers nos ciclos de PCR estabelecidos neste trabalho; <sup>2</sup>Distância entre o gene *Fw* e o marcador molecular estimada por Eujayl *et al.* (1998) e Hamwich *et al.* (2005); <sup>3</sup>F = forward e <sup>4</sup>R = reverse primer.

Para o primer OPK-15, as reações de amplificação via PCR foram realizadas em um volume final de 12,5 µL composto por 5,05 µL de água destilada, 1,25 µL de tampão 10X; 0,75 µL MgCl<sub>2</sub> (50 mM); 0,2 µL de *Taq* DNA polimerase (5 u/µL Invitrogen® Life Technologies); 1,25 µL de dNTP (dATP, dTTP, dCTP e dGTP - 0,25 mM/cada); 0,5 µL do *primer* (10 mM); e 3,0 µL de DNA (20 ng/µL). As condições de amplificação foram as seguintes: um ciclo inicial de 3 minutos a 94 °C (desnaturação inicial), seguido de 30 ciclos de 30 segundos a 94 °C (desnaturação), um minuto a 36 °C (anelamento), um minuto a 72 °C (extensão), finalizando com cinco minutos a 72 °C (extensão final), seguido de armazenamento a 4 °C, em um termociclador GeneAmp® PCR System 9700.

Para o marcador microssatélite SSR 59-2, as reações de amplificação foram realizadas em um volume final de 20 µL contendo, na reação, 10,48 µL de água (H<sub>2</sub>O) destilada; 2,0 µL de tampão 10X; 1,2 µL de MgCl<sub>2</sub> (50 mM); 0,32 µL de *Taq* DNA polimerase (5 u/µL Invitrogen® Life Technologies), 2,0 µL de dNTP (dATP, dTTP, dCTP e dGTP - 0,25 mM/cada); 0,5 µL (10 mM) de cada primer e 3,0 µL de DNA (20 ng/µL). As condições de amplificação foram as seguintes: um ciclo inicial de três minutos a 94 °C (desnaturação inicial), seguido de 35 ciclos de 30 segundos a 94 °C (desnaturação), 35 segundos a 60 °C (anelamento), 20 segundos a 72 °C (extensão), finalizando com cinco

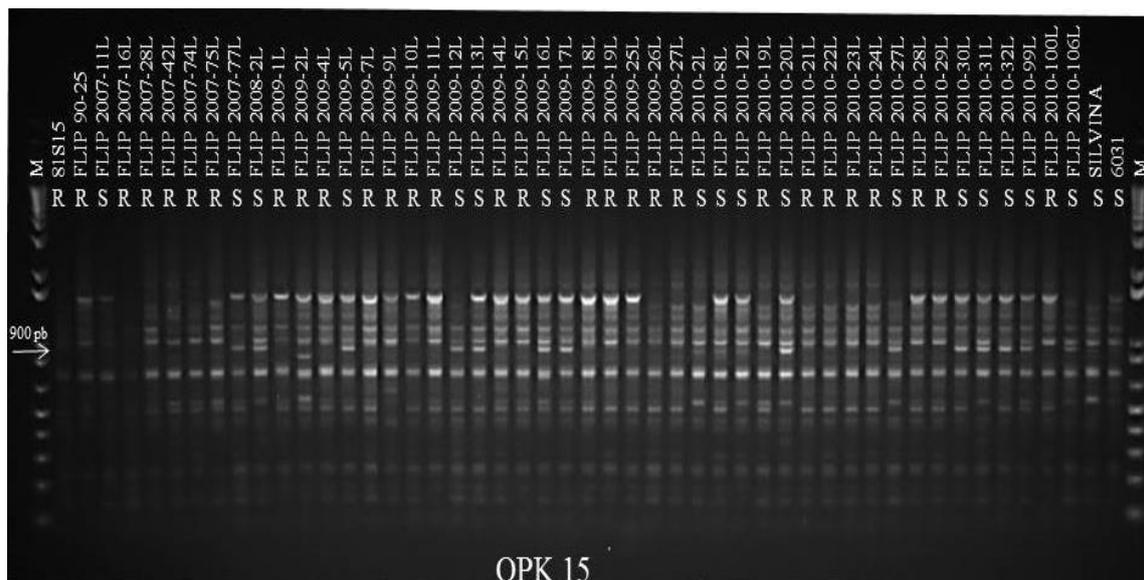
minutos a 72 °C (extensão final), seguido de armazenamento a 4 °C, em um termociclador GeneAmp® PCR System 9700.

Todos os produtos de PCR foram separados por eletroforese em gel de agarose a 1% (m/v), corados com brometo de etídeo e colocados em cuba com solução TBE ([Tris 0,89 M] ácido bórico [0,89 M] e EDTA [0,02 M]), por duas horas a 80 volts. O tamanho dos alelos (em pares de base) foi estimado por comparação visual com o marcador de peso molecular 1 Kb DNA *ladder* (Invitrogen® Life Technologies) visualizados em transluminador UV. As leituras dos géis foram realizadas com base na presença ou ausência da banda (amplicon) ligada ao fator de resistência.

### 5.3 Resultados e Discussão

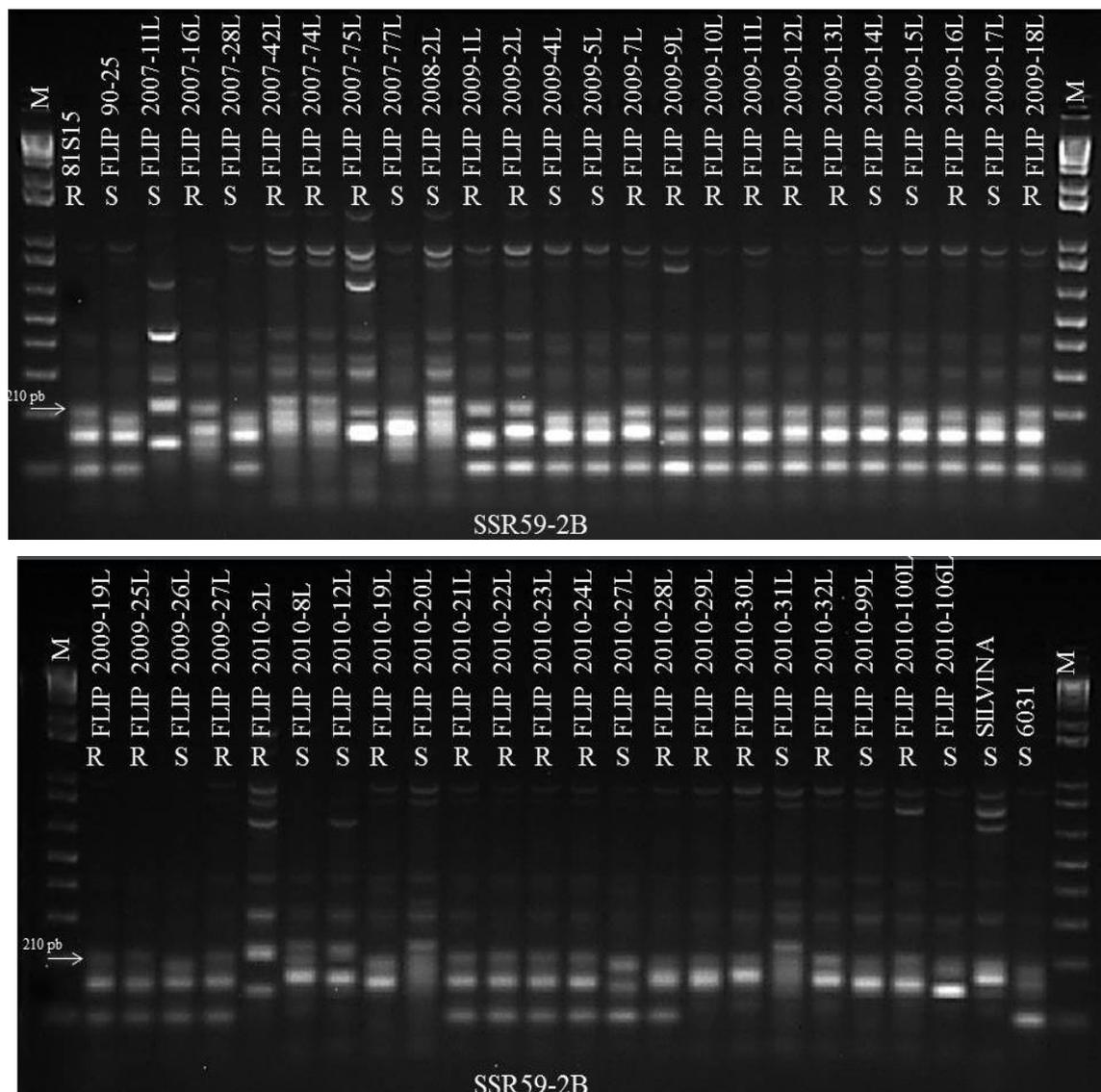
A utilização do marcador RAPD OPK-15<sub>900</sub> (em fase de repulsão) permite a confirmar a ausência do gene de resistência *Fw* em pelo menos um dos cromossomos nas linhagens avaliadas. Esse marcador foi identificado por Eujayl *et al.* (1998) no primeiro estudo que posicionou o locus *Fw* no mapa genético da lentilha. Esse marcador RAPD foi detectado predominantemente em materiais de lentilha suscetíveis a *F. oxysporum* f. sp. *lentis*, estando, portanto, em fase de repulsão com o alelo resistente (EUIJAYL *et al.* 1998). As linhagens FLIP2007-11L, FLIP2007-77L, FLIP2008-2L, FLIP2009-5L, FLIP2009-12L, FLIP2009-13L, FLIP2009-16L, FLIP2009-17L, FLIP2010-2L, FLIP2010-8L, FLIP2010-12L, FLIP2010-20L, FLIP2010-27L, FLIP2010-30L, FLIP2010-31L, FLIP2010-32L, FLIP2010-99L, FLIP2010-106L, 6031 e a cultivar ‘Silvina’ apresentaram a banda de 900 pb, sendo caracterizadas como portadoras do alelo de suscetibilidade em pelo menos um dos cromossomos (Figura 1). Toda essa coleção de linhagens endogâmicas é resultante de diversos ciclos de autofecundação. Dessa forma, é muito provável que todas essas linhagens apresentem uma configuração alélica homozigota suscetível (*fw/fw*).

As demais linhagens avaliadas apresentaram a ausência da banda, que é uma característica associada com plantas portadoras do alelo *Fw* em homozigose (EUIJAYL *et al.* 1998). Um subgrupo das linhagens identificadas como portadoras do fator de resistência é derivado de cruzamentos envolvendo os acessos ILL5588 e ILL5883, que têm sido comumente utilizados como fontes de resistência ao fungo *F. oxysporum* f. sp. *lentis* em cruzamentos no programa de melhoramento do ICARDA (TIWARI *et al.*, 2018).



**Figura 1** – Perfil eletroforético em gel de agarose 1% (em solução de TBE) dos produtos da amplificação via PCR obtidos em linhagens de lentilha com o uso do primer OPK-15 (EUJAYL *et al.*, 1998). A presença do amplicon OPK-15<sub>900</sub> (com 900 pb), ligado em fase de repulsão com o alelo *Fw*, indica que as linhagens com esse marcador são muito provavelmente suscetíveis ao fungo *Fusarium oxysporum* f. sp. *lentis*. R= presença do marcador ligado ao gene de resistência *Fw* e S = ausência do marcador ligado ao gene de resistência *Fw*.

Diferente do marcador OPK-15<sub>900</sub>, os marcadores derivados do primer SSR 59-2 estão em ligação em fase de acoplamento com o alelo de resistência *Fw*. As linhagens 81S15, FLIP2007-16L, FLIP2007-42L, FLIP2007-74L, FLIP2007-75L, FLIP2009-1L, FLIP2009-2L, FLIP2009-7L, FLIP2009-9L, FLIP2009-10L, FLIP2009-11L, FLIP2009-12L, FLIP2009-13L, FLIP2009-16L, FLIP2009-18L, FLIP2009-19L, FLIP2009-25L, FLIP2009-27L, FLIP2010-2L, FLIP2010-19L, FLIP2010-21L, FLIP2010-22L, FLIP2010-23L, FLIP2010-24L, FLIP2010-28L, FLIP2010-29L, FLIP2010-30L, FLIP2010-32L e FLIP2010-100L foram identificadas como potenciais portadoras do locus *Fw* por meio das análises com o marcador SSR59-2B (Figura 2).



**Figura 2** – Perfil eletroforético em gel de agarose 1% (em solução de TBE) dos produtos da amplificação via PCR obtido em linhagens de lentilha com o uso do marcador SSR59-2B (HAMWIEH *et al.*, 2005). A presença do amplicon de 210 pb indica que a linhagem possui padrão de bandas associado com o fator de resistência *Fw*.

Seis das linhagens analisadas (FLIP2009-12L, FLIP2009-13L, FLIP2009-16L, FLIP2010-2L, FLIP2010-30L e FLIP2010-32L) apresentaram resultado positivo para a presença do alelo suscetível (marcador OPK-15<sub>900</sub>) ao mesmo tempo que apresentaram a presença do alelo que confere resistência a *F. oxysporum* f. sp. *lentis* (identificada pelo marcador SSR 59-2B), indicando a presença simultânea de ambos os marcadores associados com o locus *Fw*. Dada a característica dominante do alelo que confere resistência (EIJAYL *et al.*, 1998; HAMWIEH *et al.*, 2005), a análise realizada indica que essas linhagens devem, muito provavelmente, apresentar fenótipo de resistência

conferido pela presença do locus *Fw*. Outras seis linhagens (FLIP 90-25L, FLIP 2007-28L, FLIP 2009-4L, FLIP 2009-14L, FLIP 2009-15L e FLIP 2009-26L) não apresentaram as bandas indicativas da presença do alelo de resistência e nem de suscetibilidade, o que não permite inferência sobre o seu fenótipo. A ausência das bandas marcadoras, nessas linhagens, pode ter acontecido pelo fato de serem materiais oriundos de um diferente pool gênico que não apresenta o padrão de polimorfismo previamente observado. Essa divergência de resultados ressalta a importância do uso de mais de um marcador para maior segurança e confiabilidade nos resultados.

Desta forma, foram caracterizados como potenciais portadores do alelo de resistência *Fw* (por ambos os marcadores OPK-15<sub>900</sub> e SSR 59-2B) os acessos: 81S15, FLIP2007-16L, FLIP2007-42L, FLIP2007-74L, FLIP2007-75L, FLIP2009-1L, FLIP2009-2L, FLIP2009-7L, FLIP2009-9L, FLIP2009-10L, FLIP2009-11L, FLIP2009-18L, FLIP2009-19L, FLIP2009-25L, FLIP2009-27L, FLIP2010-19L, FLIP2010-21L, FLIP2010-22L, FLIP2010-23L, FLIP2010-24L, FLIP2010-28L, FLIP2010-29L, FLIP2010-100L. Por sua vez, foram classificados como potencialmente suscetíveis (ausência do gene *Fw*) os acessos: FLIP2007-11L, FLIP2007-77L, FLIP2008-2L, FLIP2009-5L, FLIP2009-17L, FLIP2010-8L, FLIP2010-12L, FLIP2010-20L, FLIP2010-27L, FLIP2010-31L, FLIP2010-99L, FLIP2010-106L, ‘Silvina’ e 6031.

A caracterização molecular desses acessos, quanto à resistência a *F. oxysporum* f. sp. *lentis*, é uma ferramenta importante para definição de genótipos promissores para a realização de melhoramento genético preventivo visando a obtenção de cultivares combinando níveis de resistência a murcha de fusário e adaptação às condições brasileiras. Outros trabalhos evidenciam a presença de diferentes fontes de resistência a *F. oxysporum* f. sp. *lentis* em acessos do ICARDA. Meena *et al.* (2017) avaliaram 92 linhagens em campo e casa de vegetação quanto a resistência a *F. oxysporum* f. sp. *lentis*; como resultado, as únicas linhagens resistentes em campo foram as seis provenientes do ICARDA; dessas, três ainda apresentaram resistência em casa de vegetação. É interessante ressaltar que as linhagens 81S15, FLIP2007-42 L e FLIP2009-18 L, caracterizadas como resistentes por ambos os marcadores utilizados no presente trabalho, apresentaram níveis aceitáveis de resistência em condições controladas em casa de vegetação e sob condições de campo em experimento conduzido no Irã (MOHAMMADI *et al.* 2012), corroborando as informações obtidas em nossas condições empregando exclusivamente análise via marcadores moleculares.

A resistência a *F. oxysporum* f. sp. *lentis* em algumas fontes é governada por um único gene dominante que foi denominado como *Fw* (EUJAYL *et al.*, 1998; HAMWIEH *et al.*, 2005). Contudo, as respostas variáveis de cultivares resistentes através dos nichos agroecológicos reforçaram a potencial existência de alta variabilidade no perfil de virulência do patógeno (NAIMUDDIN; CHAUDHARY, 2009) e reforçam a potencial ocorrência de patótipos (= raças) de *F. oxysporum* f. sp. *lentis* (POURALIBABA *et al.* 2016). Baseando-se nestas respostas, alguns estudos foram realizados para avaliar a variação patogênica de isolados de *F. oxysporum* f. sp. *lentis* e identificação de raças e/ou patótipos do patógeno. Em estudo de patogenicidade realizado com 32 isolados de *F. oxysporum* f. sp. *lentis* indicou um comportamento homogêneo dos isolados e sugerindo a existência de apenas uma raça na Argélia (BELABID; FORTAS, 2002). Em estudos posteriores, 27 acessos de lentilha reportados como resistentes a *F. oxysporum* f. sp. *lentis* por diferentes autores e uma testemunha sabidamente suscetível foram inoculados com 52 isolados provenientes do Irã, Síria e Argélia. Os resultados indicaram que o comportamento dos materiais em relação à resistência ou à suscetibilidade foi dependente do isolado de *F. oxysporum* f. sp. *lentis*, sendo identificados pelo menos sete diferentes patótipos (POURALIBABA *et al.* 2016). Mais recentemente, oito raças (patótipos) foram identificadas na Índia baseando-se na patogenicidade de uma coleção de isolados de *F. oxysporum* f. sp. *lentis* em genótipos diferenciais de lentilha (HIREMANI; DUBEY, 2018).

O conhecimento da existência de raças/patótipos de *F. oxysporum* f. sp. *lentis* tem implicação direta na otimização da busca por resistência, direcionando-a para a raça presente na região de cultivo de interesse. O genótipo genitor ILL 5588, principal fonte de resistência conhecida neste estudo, apresentou suscetibilidade a quatro de sete patótipos de *F. oxysporum* f. sp. *lentis* (POURALIBABA *et al.*, 2016). Nesse sentido, a presença do gene de resistência *Fw* não garante necessariamente o fenótipo de resistência em campo contra todas as variantes já identificadas de *F. oxysporum* f. sp. *lentis*.

A produção de lentilha no Brasil apresenta boas perspectivas de sucesso, que podem ser maximizadas com uma ampla disponibilidade de genótipos com resistência ao *F. oxysporum* f. sp. *lentis* (que é um dos principais problemas relacionados à produção de lentilha no mundo). A caracterização dos genótipos estudados via marcadores moleculares ligados ao locus *Fw* permitiu identificar potenciais fontes de resistência que poderão ser utilizadas como recursos genéticos dentro dos programas de melhoramento no caso de uma eventual introdução de isolados de *F. oxysporum* f. sp. *lentis* no Brasil.

## Conclusões

- Foram caracterizados como potenciais portadores do alelo de resistência *F<sub>w</sub>* (por ambos os marcadores OPK-15<sub>900</sub> e SSR 59-2B) os acessos/linhagens: 81S15, FLIP2007-16L, FLIP2007-42L, FLIP2007-74L, FLIP2007-75L, FLIP2009-1L, FLIP2009-2L, FLIP2009-7L, FLIP2009-9L, FLIP2009-10L, FLIP2009-11L, FLIP2009-18L, FLIP2009-19L, FLIP2009-25L, FLIP2009-27L, FLIP2010-19L, FLIP2010-21L, FLIP2010-22L, FLIP2010-23L, FLIP2010-24L, FLIP2010-28L, FLIP2010-29L, FLIP2010-100L.
- Por sua vez, foram classificados como potencialmente suscetíveis (ausência do gene *F<sub>w</sub>*) os acessos/cultivares/linhagens: FLIP2007-11L, FLIP2007-77L, FLIP2008-2L, FLIP2009-5L, FLIP2009-17L, FLIP2010-8L, FLIP2010-12L, FLIP2010-20L, FLIP2010-27L, FLIP2010-31L, FLIP2010-99L, FLIP2010-106L, ‘Silvina’ e 6031.

## Referências

- ARYA A.; KUSHWAHA, K.P.S. Evaluation of chemicals for the management of lentil wilt, caused by *Fusarium oxysporum* f.sp. *lentis*. **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, v. 7, n.5, p. 2320-2323, 2018.
- BAYAA, B.; ERSKINE, W.; HAMDI, A. Evaluation of a wild lentil collection for resistance to vascular wilt. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 42, p. 231-235, 1995.
- BELABID, L.; FORTAS, Z. Virulence and vegetative compatibility of Algerian isolates of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lentis*. **Phytopathologia Mediterranea**, v. 41, n. 3, p. 179-187, 2002.
- BOITEUX, L. S.; FONSECA, M. E. N.; SIMON, P. W. Effects of plant tissue and DNA purification method on randomly amplified polymorphic DNA-based genetic fingerprinting analysis in carrot. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 124, n. 1, p. 32-38, 1999.
- BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO – **Instrução Normativa MAPA 41/2008**, de 1º de julho de 2008. Lista de pragas quarentenárias ausentes e presentes. Brasília: MAPA, 2008. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/sanidade-animal-e-vegetal/sanidade-vegetal/arquivos-quarentena/lista-de-pragas-quarentenarias-ausentes-e-presentes.pdf/view>. Acesso em: 11 maio 2021.
- CHEN, W.; SHARMA, H.C.; MUEHLBAUER, F. J. **Compendium of Chickpea and Lentil Diseases and Pests**. Minnesota: American Phytopathological Society Press, 2011.

CHOUDHARY, A. K.; KUMAR, S. Genetic improvement for fusarium wilt resistance in lentil. In: SINGH, A. K.; BHAKTA, N.; SANGALE, U.R.; MANIBHUSHAN; SUNDARAM, P. K.; KUMAR, S.; YASIN, J.K. (eds.). **Scientific Lentil Production**. Nova Deli: Satish Serial Publishing House, 2016. p. 59-72.

DOLATABADI, K.; MOHAMMADI, H.; GOLTAPEH, E.; MOHAMMADI, N.; RABIEY, M.; ROHANI, N.; VARMA, A. Biocontrol potential of root endophytic fungi and Trichoderma species against Fusarium wilt of lentil under in vitro and greenhouse conditions. **Journal of Agricultural Science and Technology**, v. 14, n.2, p. 407-420, 2011.

EUJAYL, I.; ERSKINE, W.; BAYAA, B.; BAUM, M.; PEHU, E. Fusarium vascular wilt in lentil: inheritance and identification of DNA markers for resistance. **Plant Breeding**, v. 117, n.5, p. 497-499, 1998.

FAOSTAT. **Crop, lentil production in the world**. Disponível em: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC/visualize>. Acesso em: 20 janeiro 2021.

FERREIRA, M. E.; RANGEL, P. H. N. Melhoramento genético preventivo: obtenção de estoques genéticos resistentes a pragas quarentenárias de alto risco para a agricultura brasileira. In: SUGAYAMA, R.L.; SILVA, M.L.; SILVA, S.X.B.; RIBEIRO, L.C.; RANGEL, L.E.P. (eds.). **Defesa vegetal: Fundamentos, ferramentas, políticas e perspectivas**. Belo Horizonte: Sociedade Brasileira de Defesa Agropecuária, 2015. p. 275-292.

HAMWIEH, A.; UDUPA, S. M.; CHOUMANE, W.; SARKER, A.; DREYER, F.; JUNG, C.; BAUM, M. A genetic linkage map of *Lens* sp. based on microsatellite and AFLP markers and the localization of fusarium vascular wilt resistance. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 110, n.4, p. 669-677, 2005.

HIREMANI, N. S.; DUBEY, S. C. Race profiling of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lentis* causing wilt in lentil. **Crop Protection**, v. 108, p. 23-30, jun. 2018.

IQBAL, J.; YOUSAF, U.; ZIA, S.; ASGHER, A.; AFZAL, R.; ALI, M.; SHEIKH, A. U.; SHER, A. Pulses Diseases “Important limiting factor in yield” and their Managements. **Asian Journal of Research in Crop Science**, v. 3, n. 2, p. 1-21, 2019.

MEENA, J. K.; SINGH, A.; DIKSHIT, H. K.; MISHRA, G. P.; ASKI, M.; SRINIVASA, N.; GUPTA, S.; TRIPATHI, A. Screening of Lentil (*Lens culinaris* Medikus sub sp. *culinaris*) Germplasm against Fusarium Wilt (*Fusarium oxysporum* f. sp. *lentis*). **International Journal Current Microbiology and Applied Sciences**, v. 6, n. 11, p. 2533-2541, 2017.

MOHAMMADI, N.; PURALIBABA, H.; GOLTAPEH, E. M.; AHARI, A. B.; SARDROOD, B. P. Advanced lentil lines screened for resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *lentis* under greenhouse and field conditions. **Phytoparasitica**, v. 40, n. 1, p. 69-76, 2012.

NAIMUDDIN; CHAUDHARY, R. G. Pathogenic variability in isolates of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lentis*. **Trends in Biosciences**, v. 2, n. 1, p. 50-52, 2009.

POURALIBABA, H. R.; RUBIALES, D.; FONDEVILLA, S. Identification of pathotypes in *Fusarium oxysporum* f. sp. *lentis*. **European Journal of Plant Pathology**, v. 144, n. 3, p. 539-549, 2016.

PRAKASH, S. L.; PANDEY, R. K. Management of collar rot of lentil. **Annals of Plant Protection Sciences**, v. 15, n. 1, p. 270-271, 2007.

RAFIQUE, K.; RAU, C.A.; NAZ, F.; SHABBIR, G. Management of vascular wilt of lentil through host plant resistance, biological control agents and chemicals. **Pakistan Journal of Botany**, v. 48, n.5, p. 2085-2092, 2016.

TAYLOR, P.; LINDBECK, K.; CHEN, W.; FORD, R. Lentil Diseases. In: YADAV, S.S.; MCNEIL, D.L.; STEVENSON, P.C. (eds.) **Lentil: An Ancient Crop for Modern Times**. Heidelberg, Alemanha: Springer Netherlands, 2007. p. 291-313.

TIWARI, N.; AHMED, S.; KYMAR, S.; SARKER, A. Fusarium wilt: A killer disease of Lentil. In: ASKUN, T. (ed.) **Fusarium Plant Diseases, Pathogen Diversity, Genetic Diversity, Resistance and Molecular Markers**. Londres, Reino Unido: IntechOpen, 2018. p. 119-138.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com a perspectiva de grande demanda do mercado nacional e internacional de lentilha, particularmente o Asiático, tem crescido a demanda por atividades de pesquisa com essa cultura no Brasil. A introdução de linhagens de outros países contribuiu, de sobremaneira, para que o país, de importador se tornou exportador de produtos vegetais como, por exemplo, a soja, o milho, o café, o arroz e o citros.

A lentilha encontrou condições edafoclimáticas favoráveis no país, especialmente na região Centro-Oeste, o que pode contribuir para expansão da produção. Para tal, esforços contínuos são necessário para implementar a sustentabilidade e competitividade dos sistemas de produção dessa cultura no país, sobretudo, no desenvolvimento de novas cultivares adaptadas e mais produtivas. Ao considerar as condições em que o trabalho foi realizado, os resultados revelaram variabilidade genética existente entre o conjunto de genótipos introduzidos do ICARDA.

Os genótipos classificados como macrosperma FLIP2010-8L, FLIP2007-16L e Silvina e os genótipos classificados como microsperma FLIP2010-12L, FLIP2010-99L, FLIP2010-20L, FLIP2010-106L, FLIP90-25L, 6031, foram considerados os mais promissores para seleção levando-se em consideração características como hábito de crescimento, cor do revestimento das sementes, cor do cotilédone, altura da planta, número de dias até o início do florescimento e peso de 1000 sementes. Notadamente a cultivar Silvina apresentou valor médio de produtividade destacadamente alto, não sendo identificado, no presente estudo, um genótipo superior a essa cultivar comercial já existente.

Em relação ao conteúdo nutricional, os genótipos que se destacaram em função da alta composição média centesimal e do teor médio de minerais foram o FLIP2007-28L, FLIP2007-75L, FLIP2009-1L, FLIP2009-2L, FLIP2009-4L, FLIP2009-9L, FLIP2009-12L, FLIP2009-14L, FLIP2009-25L, FLIP2010-12L, FLIP2010-19L, FLIP2010-27L, FLIP2010-100L. Contudo, esses genótipos podem ser mais bem investigados em trabalhos futuros que envolvam estudos comparativos sobre os mecanismos químicos (fatores antinutricionais e antioxidantes), genéticos e ambientais, assim como avaliar se o aumento de um mineral influencia na concentração de outro.

Os genótipos 81S15, FLIP2007-16L, FLIP2007-42L, FLIP2007-74L, FLIP2007-75L, FLIP2009-1L, FLIP2009-2L, FLIP2009-7L, FLIP2009-9L, FLIP2009-10L, FLIP2009-11L, FLIP2009-18L, FLIP2009-19L, FLIP2009-25L, FLIP2009-27L,

FLIP2010-19L, FLIP2010-21L, FLIP2010-22L, FLIP2010-23L, FLIP2010-24L, FLIP2010-28L, FLIP2010-29L, FLIP2010-100L apresentaram padrões eletroforéticos que os caracterizam como resistentes a *F. oxysporum* f. sp. *lentis*. Essa caracterização pode ser útil para guiar a escolha de materiais genéticos dentro dos programas de melhoramento genético da lentilha visando antecipar (via desenvolvimento de cultivares resistentes) o potencial problema do ingresso de isolados de *F. oxysporum* f. sp. *lentis* nos campos de cultivo do Brasil.