



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA
MELHORAMENTO GENÉTICO DE PLANTAS**

ISMAEL GAIÃO DA COSTA

**GENÉTICA DE POPULAÇÕES SEGREGANTES DE FEIJÃO-CAUPI
QUANTO À FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO**

RECIFE – PE

2018

ISMAEL GAIÃO DA COSTA

**GENÉTICA DE POPULAÇÕES SEGREGANTES DE FEIJÃO-CAUPI
QUANTO À FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte das exigências apresentadas pelo Curso de Melhoramento Genético de Plantas para obtenção do título de Doutor em Agronomia.

COMITÊ DE ORIENTAÇÃO:

Professor Dr. José Wilson da Silva

Professora Dr.^a Gheysa Coelho Silva

RECIFE – PE

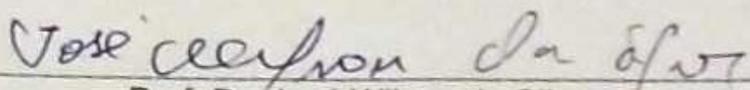
2018

**GENÉTICA DE POPULAÇÕES SEGREGANTES DE FEIJÃO-CAUPI
QUANTO À FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO**

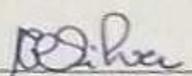
ISMAEL GAIÃO DA COSTA

Tese defendida e aprovada pela Banca Examinadora em: 07/03/2018

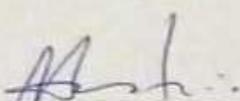
ORIENTADOR:

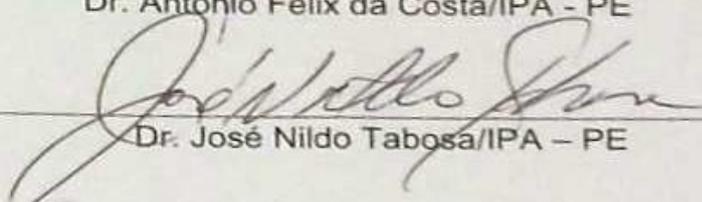

Prof. Dr. José Wilson da Silva

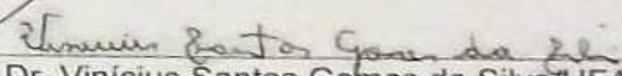
COORIENTADORA:

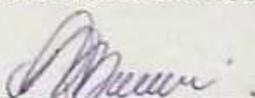

Prof.ª Dr.ª Gheysa Coelho Silva

EXAMINADORES:


Dr. Antonio Félix da Costa/IPA - PE


Dr. José Nildo Tabosa/IPA - PE


Dr. Vinícius Santos Gomes da Silva/UFAL-PNPD


Dr. Antonio Francisco de Mendonça Júnior/UFRPE

RECIFE - PE

2018

Nada lhe é impossível
Ou tão difícil na vida.
Quando a força de vontade
Por você é comedida.
Controlando a emoção,
Agindo pela razão
Toda batalha é vencida!

Ismael Gaião

Aos meus queridos filhos Isabela e Ismael Filho, pelo apoio, incentivo e carinho de sempre.

Aos meus novos filhos (genro e nora), Felipe e Marcela, pelo carinho e apoio em todos os momentos.

À minha mãe Maria José (*in memorian*), pelo amor, coragem, força e exemplo de vida.

Ao meu pai João Aurélio (*in memorian*), pela eterna dedicação, amor e exemplo de dignidade e honradez.

Aos meus irmãos Ivaneide, Izabel, Ivone, Itamir, Hibernon (*in memorian*), Isis, Iris e Ivonalda pelo carinho de sempre.

À minha querida esposa Walkíria, pelo apoio, incentivo, dedicação, paciência, amor e companheirismo incondicionais, transmitindo toda a força para que este trabalho fosse concluído.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Aos Professores Dr. José Wilson da Silva e Dr.^a Gheysa Coelho Silva, pela confiança, apoio, orientações e ensinamentos transmitidos.

Ao Professor Dr. Mario de Andrade Lira Junior, pelo apoio e contribuições indispensáveis à montagem do experimento.

Aos pesquisadores do Instituto Agrônomo de Pernambuco – IPA, Dr. Antonio Félix da Costa e Dr. José Nildo Tabosa pelo apoio Institucional, pessoal e contribuições indispensáveis à pesquisa.

Ao Coordenador da Estação Experimental de Cana-de-Açúcar de Carpina, Dr. Djalma Euzébio Simões Neto, por ter disponibilizado toda a infraestrutura da EECAC necessária à realização do trabalho e pelo apoio em todas as fases desta pesquisa.

Às colegas do laboratório de microbiologia do solo da UFRPE, Jacilene Santana e Vanessa Dina, pela cooperação na condução do experimento, e especialmente às colegas Adeneide Candido, Cybelle Souza e Luciana Remígio por todo apoio, incentivo, ensinamentos e preciosas colaborações.

Em especial, aos colegas do Curso de Doutorado Diogo Borges, Fabian Santana, Kleyton Danilo, Robson Ramos e Yrlania Guerra, pelos estudos, discussões, apoio e incentivos.

Aos amigos e colegas da EECAC, onde tive a oportunidade de desenvolver esse trabalho, Alane Ayana, Alex Sales, Amaro Epifânio, Andréa Chaves Fiuza, Carlos Fernando de Araújo, Celina Carneiro, Edson Barbosa, Edson Cardoso, Elder Velez, Fábio Vieira, Fernando Dias, Gilberto Eduardo, Jaime de Paula, José Inácio Alves, José Manoel, Josias Rufino, Leonam Silva, Leonildo dos Santos, Murielly Máximo, Mariluce Ribeiro, Nathalia Sobral, Paulo Rocha, Robson Ramos, Rodrigo Tomé, Rosana Lima, Severino Lisboa, Suzana Menezes, Walber Douglas e Willams Oliveira, pelo apoio na implantação, condução e colheita do experimento e, principalmente, pelos incentivos, companheirismo, amizade, alegria e colaboração.

Especial aos colegas do Laboratório de Solos da EECAC – UFRPE, Clécio Pontual e Anunciada Leitão, pelo apoio na coleta e preparo dos dados para conclusão das análises químicas.

Aos coordenadores do Programa de Pós-Graduação em Agronomia – Melhoramento Genético de Plantas, Prof. Dr. Péricles de Albuquerque Melo Filho e Prof^a. Dr^a. Vivian Loges, pela dedicação ao programa e aos alunos.

À Pró-Reitora de Pesquisa e Pós-Graduação, Prof.^a Dr.^a Maria Madalena Pessoa Guerra, por todo apoio institucional e pessoal para conclusão deste curso.

À Ouvidora Geral da UFRPE, Sra. Denize Siqueira, pelo apoio institucional indispensável para conclusão deste curso.

Ao Professor José Dias dos Santos, UFPE, pelo apoio, discussões e revisões que enriqueceram esse trabalho de tese.

Aos colegas do Mestrado e Doutorado em Melhoramento Genético de Plantas – UFRPE, pelos bons momentos de estudo, luta e amizade.

Ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia - Melhoramento Genético de Plantas – UFRPE, pela oportunidade de cursar esse doutorado.

À Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) e ao Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA), pelos apoios institucionais.

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO II

PARÂMETROS GENÉTICOS EM GERAÇÕES SEGREGANTES DE FEIJÃO-CAUPI QUANTO À FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO

Tabela 1. Resumo da análise de variância, com base na média de cada parcela, para número de nódulos (NN), massa seca dos nódulos (MSN), massa seca das raízes (MSR), massa seca da parte aérea (MSPA), nitrogênio acumulado na parte aérea (NAPA) e eficiência de nodulação (ENOD).....56

Tabela 2. Valores médios das variáveis número de nódulos (NN), massa seca dos nódulos (MSN), massa seca das raízes (MSR), massa seca da parte aérea (MSPA), nitrogênio acumulado na parte aérea (NAPA) e eficiência de nodulação (ENOD), aos 45 dias após a emergência.....57

Tabela 3. Estimativas de parâmetros genéticos para número de nódulos (NN), massa seca de nódulos (MSN), massa seca das raízes (MSR), massa seca da parte aérea (MSPA), nitrogênio acumulado na parte aérea (NAPA) e eficiência de nodulação (ENOD).....59

Tabela 4. Resumo da análise de variância, entre e dentro das gerações segregantes, baseada nos valores individuais de todas as plantas, para as variáveis número de nódulos (NN), massa seca dos nódulos (MSN), massa seca das raízes (MSR), massa seca da parte aérea (MSPA), nitrogênio acumulado na parte aérea (NAPA) e eficiência de nodulação (ENOD), aos 45 dias após a emergência.....60

Tabela 5. Estimativas de parâmetros genéticos, entre e dentro das gerações segregantes, para as variáveis número de nódulos (NN), massa seca dos nódulos (MSN), massa seca das raízes (MSR), massa seca da parte aérea (MSPA), nitrogênio acumulado na parte aérea (NAPA) e eficiência de nodulação (ENOD), aos 45 dias após a emergência.....61

Tabela 6. Predição do potencial das gerações segregantes para as variáveis número de nódulos (NN), massa seca dos nódulos (MSN), massa seca das raízes (MSR) e massa seca da parte aérea (MSPA).....	62
---	----

CAPÍTULO III

CORRELAÇÕES E ANÁLISE DE TRILHA EM GERAÇÕES SEGREGANTES DE FEIJÃO-CAUPI QUANTO À FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO

Tabela 1. Estimativas dos coeficientes de correlação fenotípica (r_f) entre as variáveis número de nódulos (NN), massa seca de nódulos (MSN), massa seca das raízes (MSR), massa seca da parte aérea (MSPA), nitrogênio acumulado na parte aérea (NAPA) e eficiência de nodulação (ENOD).....	74
--	----

Tabela 2. Estimativas dos efeitos diretos e indiretos dos componentes explicativos da fixação biológica de nitrogênio, sobre o caráter principal nitrogênio acumulado na parte aérea (NAPA).....	77
---	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

CV - coeficiente de variação experimental;
CVe - coeficiente de variação ambiental;
CVg - coeficiente de variação genético;
CVg/CVe - índice de variação, índice b;
CVgd: coeficiente de variação genético dentro das gerações;
CVge: coeficiente de variação genético entre gerações;
DAE - dias após a emergência;
EECAC - Estação Experimental de Cana-de-açúcar de Carpina;
ENOD - eficiência de nodulação;
FBN - fixação biológica de nitrogênio;
FV – fontes de variação;
g planta⁻¹ - grama por planta;
GL – grau de liberdade;
h² – herdabilidade;
IPA - Instituto Agrônomo de Pernambuco;
L – cultivar padrão;
m – média das linhagens na geração infinito (F_∞);
MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento;
mg mg⁻¹ – miligrama por miligrama;
MSN - massa seca de nódulos;
MSPA - massa seca da parte aérea;
MSR - massa seca das raízes;
NAPA - nitrogênio acumulado na parte aérea;
NC - número de condição;
NDFB - nitrogênio derivado da fixação biológica;
NN - número de nódulos por planta;
NRS - número de ramos secundários;
P<0,01 – significativo a 1% de probabilidade;
P<0,05 – significativo a 5% de probabilidade;
R² - coeficiente de determinação;

RELARE - Rede de Laboratórios para Recomendação, Padronização e Difusão de Tecnologia de Inoculantes Microbianos de Interesse Agrícola;

r_f - correlação fenotípica;

s - desvio padrão fenotípico entre as linhagens;

SIPA - Sistema Integrado de Produção Agroecológica;

t - tonelada;

UFRPE - Universidade Federal Rural de Pernambuco;

x - média da linhagem considerada como padrão (L);

Z - probabilidade de linhagens superiores ao padrão na geração F_∞ .

σ^2_e - variância ambiental;

σ^2_f - variância fenotípica;

σ^2_g - variância genética;

σ^2_{gd} : variância genotípica dentro das gerações;

σ^2_{ge} : variância genotípica entre gerações;

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS.....	viii
LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS.....	x
RESUMO.....	xiii
ABSTRACT.....	xiv
1. CAPÍTULO I: INTRODUÇÃO GERAL.....	15
1.1. Introdução.....	16
1.2. Referencial Teórico.....	18
1.3. Referências Bibliográficas.....	35
2. CAPÍTULO II: PARÂMETROS GENÉTICOS EM GERAÇÕES SEGREGANTES DE FEIJÃO-CAUPI QUANTO À FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO.....	49
2.1. Resumo.....	50
2.2. Abstract.....	50
2.3. Introdução.....	51
2.4. Material e Métodos.....	53
2.5. Resultados e Discussão.....	55
2.6. Conclusões.....	63
2.7. Agradecimentos.....	62
2.8. Referências Bibliográficas.....	63
3. CAPÍTULO III: CORRELAÇÕES E ANÁLISE DE TRILHA EM GERAÇÕES SEGREGANTES DE FEIJÃO-CAUPI QUANTO À FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO.....	66
3.1. Resumo.....	68
3.2. Abstract.....	68
3.3. Introdução.....	69
3.4. Material e Métodos.....	71
3.5. Resultados e Discussão.....	73
3.6. Conclusões.....	78
3.7. Agradecimentos.....	78
3.8. Referências Bibliográficas.....	79
Anexos.....	83

RESUMO

A fixação biológica de nitrogênio (FBN) no feijão-caupi tem mostrado grande potencial para aumento da contribuição à nutrição das plantas, sendo reconhecida como eficaz para diminuir o custo de produção e a dependência por insumos externos. As gerações segregantes do feijão-caupi são tão eficientes para a FBN quanto seus genitores, porém não há relatos na literatura sobre estimativas da herdabilidade desse caráter nessas gerações. O objetivo deste trabalho foi analisar genitores e gerações segregantes desta cultura, por meio de parâmetros genéticos, correlações e análise de trilha, quanto à FBN. O experimento foi conduzido de março a abril de 2016, em bancadas ao ar livre na Estação Experimental de Cana-de-açúcar de Carpina, pertencente à Universidade Federal Rural de Pernambuco, localizada a 7° 51' 04" de latitude sul, 35° 14' 27" de longitude oeste e 178 m de altitude, com delineamento em blocos casualizados com quatro repetições. Foi utilizada uma mistura de duas estirpes referências de *Bradyrhizobium*, recomendadas para o feijão-caupi. As sementes foram plantadas em bolsas de polietileno de 20 cm x 30 cm, tendo como substrato a mistura de vermiculita e areia lavada na proporção de 1:1. Os tratamentos avaliados foram os parentais e as gerações F₂, F₃ e F₄. As parcelas foram compostas por 24 plantas de cada um dos parentais e por 76 plantas de cada uma das gerações, totalizando 1104 plantas. Avaliaram-se número de nódulos por planta (NN), massa seca de nódulos (MSN), massa seca das raízes (MSR), massa seca da parte aérea (MSPA), nitrogênio acumulado na parte aérea (NAPA) e eficiência de nodulação (ENOD). A coleta das plantas ocorreu aos 45 dias após a emergência (DAE) e os resultados evidenciaram que a FBN nas gerações segregantes foi tão eficiente quanto nos genitores, permitindo a obtenção de genótipos mais promissores a cada avanço das gerações. A metodologia de Jinks e Pooni é uma alternativa viável na predição do potencial de populações segregantes em gerações mais avançadas de feijão-caupi. As correlações fenotípicas entre as variáveis demonstraram existir grande influência de cada uma delas sob os demais. A análise de trilha foi adequada para explicar as relações entre componentes primários e o NAPA da planta, considerando a alta estimativa do coeficiente de determinação (R²) e o baixo efeito residual. Os efeitos diretos e indiretos das variáveis primárias indicaram ser possível selecionar plantas com maior teor de NAPA quando essas apresentam maiores valores das variáveis explicativas.

Palavras-chave: Estirpes. Inoculação. *Bradyrhizobium*. *Vigna unguiculata*.

ABSTRACT

Biological nitrogen fixation (BNF) in cowpea has shown great potential for increasing the contribution to plant nutrition, being recognized as effective in reducing the cost of production and dependence on external inputs. Segregating generations of cowpea are as efficient for FBN as their parents, but there are no reports in the literature on estimates of heritability of this character in these generations. The objective of this work was to analyze segregating parents and generations of this culture, through genetic parameters, correlations and path analysis, regarding the variables related to BNF. The experiment was carried from march to april 2016, in outdoor benches at the Experimental Sugarcane Station of Carpina (Federal Rural University of Pernambuco), located at the Zona da Mata region of the State of the Pernambuco, Northeast of Brazil, located at 7° 51' 04" south latitude, 35° 14' 27" west longitude, and 178 m altitude, with a randomized block design and four replications. A mixture of two strains of *Bradyrhizobium*, recommended for cowpea, was used. The seeds were planted in polyethylene bags of 20 cm x 30 cm, using as a substrate the mixture of vermiculite washed sand in a 1:1 ratio. The parents and the generations F₂, F₃ and F₄ were used as treatments. The plots were composed of 24 plants of each of the parents and 76 plants of each of the generations, totaling 1104 plants. The number of nodules per plant (NN), nodules dry mass (NDM), roots dry mass (RDM), shoot dry mass (SDM), nitrogen accumulated in the shoots (NAS) and nodulation efficiency were evaluated (NODE). Plant collection was performed 45 days after emergence (DAE) and the results showed that NBF in the segregating generations was as efficient as in the parents, allowing more promising genotypes to be obtained at each generation advancement. The Jinks and Pooni methodology is a viable alternative in predicting the potential of segregating populations in more advanced generations of cowpea. The phenotypic correlations between the variables showed a great influence of each of them under the others. The path analysis was adequate to explain the relationships between primary components and NAS of the plant, considering the high estimation of the coefficient of determination (R^2) and the low residual effect. The direct and indirect effects of the primary variables indicated that it is possible to select plants with higher NAS content when they present higher values of the explanatory variables.

Keywords: Strains. Inoculation. *Bradyrhizobium*. *Vigna unguiculata*.

CAPÍTULO I

INTRODUÇÃO E REFERENCIAL TEÓRICO

1. INTRODUÇÃO E REFERENCIAL TEÓRICO

1.1. Introdução

O feijão-caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp.), possui um dos maiores teores de proteínas utilizáveis entre as leguminosas cultivadas e, sem dúvida, é uma das fontes de proteína de plantas mais importantes entre as culturas exploradas pelos produtores de grãos (Nwosu et al. 2013). É uma cultura muito importante para os semi-áridos brasileiros, principalmente para os pequenos agricultores familiares (Marinho et al. 2017).

É uma leguminosa comestível que recebeu no Brasil diferentes nomes vulgares pelos diversos estados do país. No Nordeste é denominado de feijão-de-corda, feijão-macássar ou macassa e feijão chocha bunda. Na região Norte é conhecido como feijão-da-colônia, feijão-de-praia e feijão-de-estrada. Na região Sul chama-se feijão-miúdo. Em algumas regiões da Bahia e norte de Minas Gerais é conhecido como feijão-catador e feijão-gurutuba e nos estados da Bahia e do Rio de Janeiro é conhecido como feijão-fradinho. O feijão-caupi é cultivado em regiões tropicais e subtropicais da África, Ásia, América, Europa e Oceania (Freire Filho et al. 2011).

Esta cultura assume uma grande importância socioeconômica, sendo a principal fonte de proteína vegetal para as populações rurais, por ser dotado de alto teor proteico, além de apresentar boa capacidade para formar simbiose com bactérias fixadoras de nitrogênio e ampla adaptação edafoclimática (Almeida et al. 2010, Zilli et al. 2011).

Esta leguminosa multiuso é utilizada, principalmente, para a produção de grãos verdes e secos sendo considerada uma das principais culturas para os pequenos agricultores do Norte e Nordeste brasileiro e está avançando nas regiões Centro-Oeste e Sudeste em razão do desenvolvimento de cultivares com características que favorecem o cultivo mecanizado, como porte mais ereto e baixo acamamento da planta, permitindo maior adensamento, além de alta produtividade, resistência a fitopatógenos, aumento do peso dos grãos e redução do ciclo de maturação (Bezerra et al. 2008, Freitas et al. 2016), dessa forma, torna-se uma boa opção de cultivo para os agricultores da região, seguindo as culturas tradicionais, como soja e milho.

É uma cultura que tem baixo custo de produção, boa adaptação às chuvas padrão e a possibilidade de colheita mecanizada (Freire Filho et al. 2011, Zilli et al. 2011).

A agregação de valor do feijão verde, hoje, representa uma grande possibilidade do feijão-caupi alcançar a agroindústria e os mercados de outras regiões, podendo-se, inclusive, vislumbrar o mercado externo. Existem três segmentos de mercado para o feijão-caupi no Brasil: feijão verde, representado pela vagem verde ou grão verde debulhado; grãos secos e sementes, o primeiro predominante e os outros dois em crescimento. O feijão processado industrialmente ainda se apresenta com mercado incipiente e pequeno, no entanto com boas perspectivas. Portanto, o feijão-caupi pode ser considerado como importante fonte de emprego e renda para regiões rurais e áreas metropolitanas (Freire Filho et al. 2011).

Muitos estudos têm apontado que o feijão-caupi apresenta a capacidade de nodular e estabelecer simbiose efetiva com uma alta diversidade de gêneros de bactérias, incluídos, entre outros, *Allorhizobium*, *Aminobacter*, *Azorhizobium*, *Burkholderia*, *Bradyrhizobium*, *Mesorhizobium*, *Methylobacterium*, *Microvirga*, *Ochrobactrum*, *Paraburkholderia*, *Phyllobacterium*, *Rhizobium*, *Sinorhizobium* (Neves e Rumjanek 1997, Willems 2006, Zhang et al. 2007, Moreira 2008, Vinuesa 2015, Leite et al. 2017).

Pesquisas têm mostrado que a produtividade do feijão-caupi tem sido aumentada com a inoculação de algumas estirpes de rizóbio, por intermédio de uma simbiose efetiva e de alta eficiência agrônômica (Zilli et al. 2011); diversos trabalhos de seleção de estirpes e de novos veículos para formulação de inoculantes foram realizados, e os resultados obtidos auxiliaram na ampliação da área plantada e inoculada (Almeida et al. 2010, Costa et al. 2011, Fernandes Júnior et al. 2012, Silva Júnior et al. 2012).

A produtividade do feijão-caupi pode ser elevada com baixos custos de produção e aumento da renda, por meio da FBN, adotando-se a inoculação das sementes com estirpes eficientes de bactérias do grupo rizóbio. Esta tem sido uma prática atualmente explorada pelos produtores rurais (Zilli et al. 2009).

Com os avanços obtidos na fixação biológica de nitrogênio em feijão-caupi, tem-se a expectativa de que essa prática se torne usual em todas as regiões produtoras, a qual, associada ao uso de cultivares melhoradas, possa reduzir custos de produção e elevar a produtividade devido ao incremento do nitrogênio atmosférico disponível para as plantas (Freire Filho et al. 2011).

Apesar da cultura apresentar ampla capacidade na FBN, nem sempre são observadas em campo respostas positivas no uso de inoculantes, tendo em vista que o feijão-caupi é cultivado, na maioria das vezes, por agricultores familiares, utilizando-

Costa, I. G. Genética de gerações segregantes de feijão-caupi quanto à fixação biológica de nitrogênio se baixo aporte tecnológico e devido a essa cultura apresentar baixa especificidade na nodulação (Zilli et al. 2008). A baixa especificidade do feijão-caupi em relação ao microssimbionte mostra-se limitante à exploração tecnológica da FBN, uma vez que as bactérias nodulantes estabelecidas no solo, além de serem competitivas e estarem em número elevado, apresentam eficiência variável na FBN (Thies et al. 1991, Hara e Oliveira 2007).

Além das diversas peculiaridades apresentadas pelo microssimbionte, também existem pesquisas demonstrando que determinados cultivares de feijão-caupi apresentam maior capacidade de nodulação e eficiência na FBN, o que permite pensar em se otimizar as respostas quanto à FBN com a utilização de cultivares eficientes e com o subsídio de programas de melhoramento vegetal para a FBN (Melo e Zilli 2009, Chagas Junior et al. 2010, Ferreira et al. 2011).

Apesar da importância da herdabilidade da eficiência da fixação biológica de nitrogênio, para os programas de melhoramento de qualquer cultura, nenhuma referência bibliográfica foi encontrada na literatura sobre estimativas da herdabilidade desse caráter em gerações segregantes de feijão-caupi. Comumente, encontram-se estimativas de diversos parâmetros genéticos em genótipos dessa cultura, mas referentes a dados de produção e/ou características morfológicas ligadas a alguns tipos de herança genética.

Neste contexto, o objetivo com este trabalho foi analisar genitores e gerações segregantes de feijão-caupi, por meio de parâmetros genéticos, correlações e análise de trilha, quanto às variáveis relacionadas à fixação biológica de nitrogênio.

1.2. REFERENCIAL TEÓRICO

1.2.1. A cultura do feijão-caupi no cenário nacional

O feijão-caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp.), é uma dicotiledonea que pertence à ordem Fabales, família Fabaceae (leguminosa), subfamília Faboideae (papilionoídea), tribo Phaseoleae, subtribo Phaseolinae, gênero *Vigna* e subgênero *Vigna*, secção *Catiang* (Freire Filho et al. 2011).

É uma leguminosa cujos grãos apresentam elevado valor nutricional e composição rica em compostos fenólicos capazes de ativar várias enzimas (Sreerama et al. 2012). As folhas do feijão-caupi possuem de 27 a 34% de proteínas e nos seus

Costa, I. G. Genética de gerações segregantes de feijão-caupi quanto à fixação biológica de nitrogênio grãos o teor de proteína é de 22 a 25% (Belane e Dakora 2010). O feijão-caupi tem curto ciclo para maturidade e apresenta tolerância à seca (Santos et al. 2010).

É uma planta de origem africana, considerada um importante componente dos sistemas de cultivo nas áreas mais secas e marginais das regiões tropicais e subtropicais da Ásia, Oceania, Oriente Médio, sul da Europa, África, sul dos EUA e América Central e do Sul (Fatokun et al. 2000). Seu cultivo é realizado em cerca de 45 países (Abate et al. 2012) e o continente africano é responsável por mais de 95% da produção mundial (FAO 2017).

A introdução do feijão-caupi no Brasil ocorreu na segunda metade do Século XVI pelos colonizadores portugueses, pelo Estado da Bahia e, a partir daí, foi disseminado por todo o país (Freire Filho et al. 2011).

Atualmente, para efeito de regulamento técnico, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA, considera a existência de dois grupos de feijão: o feijão-comum representado pela espécie *Phaseolus vulgaris* L. (Grupo I) e o feijão-caupi, proveniente da espécie *Vigna unguiculata* L. Walp. (Grupo II) (Brasil 2008).

O Brasil é o terceiro maior produtor mundial de feijão-caupi, ficando abaixo da Nigéria e do Niger. Estes três países representam juntos 82,46 % da área colhida e 81,92 % da produção mundial (FAO 2017, CONAB 2017). O feijão-caupi é o segundo tipo de feijão mais cultivado no Brasil. Sua produção se concentra nas regiões Norte (73,7 mil hectares) e Nordeste (1,2 milhões hectares), onde os estados maiores produtores são CE, BA e PI. A produção estimada para a safra 2016/2017, nestas regiões, foi de 479,4 mil toneladas, em uma área de 1.186,1 mil hectares, apresentando conseqüentemente, produtividade de 404 Kg.ha⁻¹. Para o Brasil a estimativa de produção na safra 2016/2017 foi de 713,0 mil toneladas numa área estimada de 1.409,3 mil hectares, apresentando uma produtividade média de 506 Kg.ha⁻¹, superior à do Norte/Nordeste devido às técnicas de plantio do Centro/Sul (CONAB 2017).

No Nordeste, a produção do feijão-caupi, tradicionalmente, encontra-se nas áreas semiáridas, onde, devido à irregularidade das chuvas e das altas temperaturas, outras culturas anuais não se desenvolvem satisfatoriamente. Essa região possui climas tropicais que proporcionam condições edafoclimáticas favoráveis ao cultivo do feijão-caupi, semelhantes ao país africano, seu local de origem (Brito et al. 2011).

Até a década de 90 seu cultivo era quase que exclusivo de pequenos e médios agricultores de base familiar. Atualmente, essa cultura passou a ocupar outros cenários agrícolas, em áreas de perímetro irrigado e na safrinha, após a cultura da

Costa, I. G. Genética de gerações segregantes de feijão-caupi quanto à fixação biológica de nitrogênio soja, e começou a ser cultivada por grandes produtores, com maior adoção de tecnologia (Saboya et al. 2013).

O seu cultivo nas regiões Nordeste e Norte, é realizado principalmente por agricultores familiares que ainda utilizam práticas tradicionais. O cultivo do feijão-caupi está em expansão nas regiões Centro-Oeste e Sudeste, onde passou a ser cultivado em larga escala a partir de 2006, em razão do desenvolvimento de cultivares com características que favorecem o cultivo mecanizado. Nestas regiões, a produção de feijão-caupi provém, principalmente, de médios e grandes empresários, com cultivo altamente tecnificado (Freire Filho et al. 2011).

O feijão-caupi está entre as principais fontes de proteínas e energia para o homem na região Nordeste do Brasil, com cerca de 25% de proteínas, e 63% de carboidratos nos grãos. É uma rica fonte alimentar para as populações de baixa renda; além do mais, possui altos teores de fibra alimentar, vitaminas, minerais, e uma baixa quantidade de lipídeos, sendo, portanto, de grande importância nessa região. Ademais é um dos alimentos básicos para as populações mais pobres e, também, fonte de emprego e renda para milhares de pessoas (Teófilo et al. 2008, Freire Filho et al. 2011).

1.2.2. Melhoramento genético do feijão-caupi

O melhoramento genético do feijão-caupi no Brasil começou na segunda metade do século XVI com as primeiras introduções de cultivares. Nos programas de melhoramento, na fase inicial de suas atividades, utilizaram-se os métodos de introdução de germoplasma, seleção massal, seleção de plantas com teste de progênie e genealógico e, posteriormente, os métodos de descendência de uma única semente (SSD) e de descendência de uma única vagem (SPD). O método genealógico foi o mais utilizado na geração de cultivares, seguido do método SPD (Freire Filho et al. 2011).

O crescente aumento da prática de cultivo tecnificado, incluindo a adoção de cultivares melhoradas, associado à incorporação de produtores com um novo perfil e do mercado consumidor mais exigente, têm gerado demanda por cultivares modernas que atendam às exigências de adensamento e de manejo dos sistemas tecnificados (Bezerra et al. 2009).

O desenvolvimento de cultivares melhoradas, utilizadas nas Regiões Centro-Oeste e Sudeste, só foi possível graças a um programa de melhoramento com etapas

Costa, I. G. Genética de gerações segregantes de feijão-caupi quanto à fixação biológica de nitrogênio bem elaboradas e infraestrutura adequada. Em 30 anos de pesquisa, o programa de melhoramento genético de feijão-caupi da Embrapa Meio-Norte lançou, em parceria com outras instituições, 71 cultivares de vários tipos comerciais (branco liso, branco rugoso, fradinho, marrom tipo sempre verde, marrom tipo mulato, marrom tipo canapu, manteiga e verde), que se ajustaram às exigências do mercado (Freire Filho et al. 2011).

Portanto, a recomendação de uma cultivar constitui um evento importante e muito esperado pelo melhorista de plantas, bem como por produtores, e equivale a reunir em um ou poucos genótipos características que promovam um desempenho superior nestes em comparação com os encontrados no mercado.

Devido à necessidade de reunir um conjunto de características em uma única linhagem, os melhoristas devem tomar uma série de cuidados ao longo das diversas etapas do programa de melhoramento até a obtenção da nova cultivar. Dentre esses cuidados, citam-se as preferências do mercado, a escolha dos parentais, o método de condução das populações segregantes, as estimativas de parâmetros genéticos, o método de seleção, os esquemas experimentais e os ambientes de avaliação (Ramalho et al. 2012a).

Dentre as perspectivas do melhoramento do feijão-caupi no Brasil, destaca-se a obtenção de cultivares mais eficazes na associação com bactérias do solo e na fixação biológica de nitrogênio e tem-se a expectativa de que essa prática se torne comum em todas as regiões produtoras, a qual, associada ao uso de cultivares melhoradas, possa reduzir custos com a produção e elevar a produtividade (Freire Filho et al. 2011).

Existem vários métodos de melhoramento aplicáveis às espécies autógamas, todavia, eles podem ser incluídos em três categorias: introdução de cultivares, seleção de linhas puras e hibridação. A descrição detalhada desses métodos é bastante encontrada na literatura (Ramalho et al. 2012, Borém e Miranda 2013).

Independentemente do método a meta é atingir a homozigose ao final do programa e a hibridação é utilizada quando o objetivo do programa é reunir num único indivíduo (linhagem) os alelos desejáveis que se encontram em linhagens distintas (Ramalho et al. 2012).

A população segregante, a partir da qual se realiza a seleção das linhagens, é obtida, normalmente, mediante a hibridação com o cruzamento entre genitores superiores contrastantes. A seleção de genitores e de populações segregantes constitui a primeira etapa no processo de melhoramento e desta depende o sucesso

Costa, I. G. Genética de gerações segregantes de feijão-caupi quanto à fixação biológica de nitrogênio das demais etapas e, conseqüentemente, a eficiência do programa, sendo uma das decisões de maior importância a ser tomada pelo melhorista (Bertan et al. 2007, Pereira et al. 2007).

1.2.3. Escolha de populações segregantes

Nos programas de melhoramento genético de plantas autógamas, conduzidos por hibridação, a escolha das populações segregantes para o desenvolvimento de genótipos capazes de propiciarem os ganhos de seleção desejados, constitui uma das etapas mais críticas. Apesar de muitas populações serem obtidas e avaliadas anualmente nos programas de melhoramento genético de feijão, nem todas apresentam potencial para que genótipos com desempenho superior aos dos genitores sejam selecionados e recomendados como cultivares. Portanto, a avaliação do potencial das populações segregantes poderá aumentar a eficiência dos programas de melhoramento (Rocha et al. 2015).

A escolha de genitores é facilitada quando o caráter a ser melhorado for de herança simples. Entretanto, quando se tratar de caráter de herança complexa, os genitores devem ser escolhidos de forma a possibilitar a geração de populações segregantes que associem média alta e grande variabilidade genética (Abreu et al. 2002).

Existem alguns métodos que auxiliam os melhoristas nessa escolha. Tais procedimentos podem ser classificados em duas categorias: métodos que utilizam o desempenho per si dos genitores e os métodos que utilizam o comportamento das progênes (Vencovsky e Barriga 1992). Há inúmeros trabalhos que discutem os métodos de escolha das populações segregantes na cultura do feijoeiro. Entre os procedimentos que auxiliam os melhoristas nessa escolha, Jinks e Pooni (1976) apresentaram uma metodologia de predição do potencial das populações para a seleção de linhagens superiores aos genitores.

Alguns estudos relatam a eficiência do método de Jinks e Pooni (1976) em feijão (Otubo et al. 1996, Mendonça et al. 2002, Abreu et al. 2002, Carneiro et al. 2002, Rocha et al. 2015), em soja (Triller e Toledo 1996, Ribeiro et al. 2009), em arroz (Santos et al. 2001), em trigo (Pimentel et al. 2013) e em abóbora (Laurindo et al. 2017).

O procedimento de Jinks e Pooni (1976) estima a probabilidade de ocorrência de linhagens com valores médios fenotípicos que superem um determinado padrão,

Costa, I. G. Genética de gerações segregantes de feijão-caupi quanto à fixação biológica de nitrogênio na geração infinito (F_{∞}), considerando-se a média e a variância das gerações iniciais. A metodologia estima a probabilidade de a população gerar linhagens superiores, considerando que as variáveis avaliadas apresentam propriedades da distribuição normal.

Essa probabilidade é obtida estimando a variável Z pela expressão $Z = (x-m)/s$, em que x é a média da cultivar considerada como padrão ou testemunha (L); m é a média das linhagens na geração F_{∞} , que, em um modelo sem dominância, corresponde à média da geração F_2 ; s é o desvio padrão fenotípico entre as linhagens e também, em um modelo sem dominância, e pode ser obtido a partir dos dados da geração F_2 ou F_3 .

De modo geral, a metodologia de Jinks e Pooni (1976) tem sido utilizada na cultura do feijão como alternativa para escolha de populações segregantes (Abreu et al. 2002, Carneiro et al. 2002, Mendonça et al. 2002).

1.2.4. Fixação biológica de nitrogênio

Diversas pesquisas têm sido realizadas com o propósito de aumentar a produção de feijão-caupi e entre as principais estratégias utilizadas estão a simbiose da cultura com bactérias fixadoras de nitrogênio e o aumento de sua eficiência simbiótica (Naab et al. 2009, Chagas Junior et al. 2010, Gualter et al. 2011, Silva Júnior et al. 2012, Rufini et al. 2014).

A fixação biológica de nitrogênio é um processo pelo qual o nitrogênio presente na atmosfera (N_2) é convertido em formas que podem ser utilizadas pelas plantas, sendo considerado um dos principais ciclos biológicos do planeta (Canfield et al. 2010) e estima-se que contribua com quase metade do nitrogênio disponível no mundo (Herder et al. 2010).

A reação é catalisada pelo complexo enzimático nitrogenase, que é encontrado em todas as bactérias fixadoras (Mendes et al. 2010). Esse processo é realizado por bactérias diazotróficas, que em simbiose com leguminosas induzem a formação de nódulos nas raízes e/ou caules das plantas, local onde se processa a conversão do nitrogênio em amônia, posteriormente disponibilizada para as plantas (Rodrigues et al. 2013).

A formação do nódulo ocorre após a bactéria identificar o hospedeiro e entrar na sua raiz, colonizando, assim, as células do córtex. As bactérias param de se multiplicar e parte sofre modificações até se tornarem bacteroides. Só quando estão

Costa, I. G. Genética de gerações segregantes de feijão-caupi quanto à fixação biológica de nitrogênio nesta forma, os rizóbios são capazes de fixar o N₂ por meio do complexo enzimático nitrogenase (Santos et al. 2008). Esta simbiose pode proporcionar melhor desenvolvimento vegetativo e produtivo da cultura com baixo custo de produção (Butrinowski et al. 2015), contribuindo para uma diminuição do uso de fertilizantes nitrogenados. Segundo Santos et al. (2014) a adubação nitrogenada afeta a nodulação em feijão-caupi, sendo restritiva em alguns solos.

A interação planta-micro-organismo, que ocorre na rizosfera, produz efeitos positivos nas propriedades físicas, químicas e biológicas do solo e pode provocar importantes implicações na agricultura (Balota et al. 2012).

Além de apresentar baixo custo de produção, a FBN reduz a emissão de gases que podem promover o efeito estufa, ao reduzir a necessidade de fertilizantes nitrogenados, e, conseqüentemente, reduz a contaminação do lençol freático pela menor chance de lixiviação de quantidades apreciáveis de nitrato (Pelegrin et al. 2009). Esta prática agrícola é muito utilizada, mas a resposta da planta à inoculação é determinada por diversos fatores bióticos e abióticos, que podem influenciar de forma positiva ou negativa os resultados de produção.

Devido às pesquisas e recomendações de estirpes específicas para a cultura, minimizando alguns riscos, este processo passou a ser uma alternativa viável para a substituição, total ou parcial, dos adubos nitrogenados, desde que supra a cultura com o nitrogênio necessário para o seu crescimento e desenvolvimento, além de diminuir os custos de produção e economizar combustíveis fósseis usados para a fabricação de fertilizantes nitrogenados (Oliveira Júnior 2013). Quando essa associação não é eficiente, ocorre má formação do sistema radicular, alteração na fotossíntese, redução na translocação de fotoassimilados e na produção e alterações do crescimento (Shridhar 2012).

O feijão-caupi é considerado uma leguminosa promíscua, pois apresenta capacidade de nodular com vários gêneros de bactérias do grupo rizóbios, cujo emprego de estirpes tem baixo custo, podendo promover o aumento da produtividade por meio de uma simbiose efetiva, sendo estas estabelecidas ou nativas dos solos brasileiros (Gualter et al. 2008, Zilli et al. 2009, Costa et al. 2011). Entretanto, existem importantes diferenças entre as estirpes bacterianas na eficiência da fixação biológica de nitrogênio quando em simbiose com essa cultura (Zilli et al. 2009).

Atualmente, existem quatro estirpes – UFLA 3-84 (SEMIA 6461), INPA 03-11B (SEMIA 6463), BR 3267 (SEMIA 6462) e BR 3262 (SEMIA 6464) – autorizadas para uso em inoculantes para o feijão-caupi (Brasil 2011), sendo que estas substituíram a

Costa, I. G. Genética de gerações segregantes de feijão-caupi quanto à fixação biológica de nitrogênio antiga estirpe recomendada BR 2001 (Silva Júnior 2012). Nos últimos anos, as pesquisas têm mostrado que as estirpes de *Bradyrhizobium* BR 3267 (SEMIA 6462) e a BR 3262 (SEMIA 6464) contribuem positivamente para o fornecimento de nitrogênio à cultura e, conseqüentemente, para o rendimento de grãos (Zilli et al. 2009).

A estirpe BR 3267 (*Bradyrhizobium japonicum*) foi selecionada e isolada de nódulos de plantas de feijão-caupi cultivadas em solos do Nordeste do Brasil, em ambientes de floresta atlântica transicional para a região do Semiárido, localizado nos estados de Pernambuco e Sergipe. A estirpe BR 3262 (*Bradyrhizobium elkanii*) foi isolada do Sistema Integrado de Produção Agroecológica (SIPA) no município de Seropédia, RJ.

As estirpes BR 3267 e BR 3262 são consideradas como "elites" para inoculação de plantas de feijão-caupi no Brasil e vários estudos, sob condições controladas e de campo, mostraram que ambas as estirpes contribuem significativamente para o rendimento das culturas, incluindo mais de 50% de acumulação de nitrogênio através da fixação biológica (Leite et al. 2017).

Na literatura encontram-se diversos trabalhos apresentando diferentes percentuais de nitrogênio fixado biologicamente pela planta do feijão-caupi (Zilli et al. 2009, Belane e Dakora 2010, Costa et al. 2011, Silva Júnior et al. 2012, Rodrigues et al. 2013, Alcantara et al. 2014, Farias et al. 2016), deste modo, a importância do melhoramento genético vegetal, visando à fixação biológica do nitrogênio, tem sido enfatizada devido à variabilidade das leguminosas quanto à eficiência da FBN.

1.2.5. Parâmetros relacionados à fixação biológica de nitrogênio

De acordo com Gualter et al. (2011), bactérias fixadoras de nitrogênio contribuem de forma significativa com um incremento da fixação biológica do nitrogênio e, logo, com o aumento de massa seca da planta. Em geral, as respostas do feijoeiro à adubação nitrogenada e à inoculação têm sido variáveis quanto à produção de massa seca da parte aérea, sendo observados efeitos positivos ou, em alguns casos, efeitos não significativos (Pelegriin et al. 2009).

A MSPA informa sobre o estado nutricional da planta, onde maiores valores podem inferir uma maior eficiência na translocação de fotoassimilados (Borges et al. 2012).

A quantidade de nitrogênio fixado simbioticamente pela associação rizóbio-planta pode estar relacionada com a biomassa dos nódulos (Dey 2004). A massa seca dos nódulos é um caráter importante na avaliação da nodulação por rizóbios em virtude da melhor correlação com o desempenho simbiótico. O número e massa seca de nódulos são parâmetros indiretos que avaliam o processo de fixação biológica do nitrogênio (Peixoto et al. 2010).

O número de nódulos por planta permite fazer inferências relativas à maior ou menor susceptibilidade do hospedeiro à infecção por bactérias fixadoras de nitrogênio de diversos gêneros. Assim, o número de nódulos é consequência da densidade de bactérias presentes no solo, representando uma medida semiquantitativa do número de células presentes, assim, uma maior nodulação pode ser considerada como um forte indicativo de que a estirpe seja uma boa competidora e consegue se sobressair em relação a outros micro-organismos do solo (Almeida et al. 2010).

Para avaliar a intensidade da fixação biológica de nitrogênio pelas plantas, deve-se anotar o número dos nódulos nas raízes de cada planta, sendo esse um dos critérios para avaliação da presença da simbiose rizóbio-leguminosas, fazendo parte, inclusive, do protocolo para avaliação da eficiência agrônômica de estirpes no Brasil pela Rede de Laboratórios para Recomendação, Padronização e Difusão de Tecnologia de Inoculantes Microbianos de Interesse Agrícola (RELARE).

Em condições de campo, havendo simbiose, considera-se que o número de nódulos acima de 58 e a massa seca de nódulos acima de 0,33 gramas por planta são suficientes para garantir o fornecimento de nitrogênio por meio da FBN. Logo, acredita-se que esses limites podem ser inferiores sem afetar a FBN para a cultura do feijão-caupi (Bastos et al. 2012).

O NAPA e a ENOD também são parâmetros utilizados para avaliar a eficiência da FBN, onde o NAPA tem sido considerado como indicador de estirpes com potencial para compor inoculantes comerciais com eficiência simbiótica e a ENOD como um parâmetro indicativo da ocorrência de uma associação simbiótica eficaz (Alcantara et al. 2014).

1.2.6. Parâmetros genéticos

O estudo e a identificação de parâmetros genéticos como, coeficiente de variação genético, herdabilidade e correlação entre características são muito importantes, pois por meio destes pode-se conhecer a variabilidade genética, o grau

Costa, I. G. Genética de gerações segregantes de feijão-caupi quanto à fixação biológica de nitrogênio de expressão de um caráter de uma geração para outra e a possibilidade de ganhos por meio da seleção direta ou indireta. Segundo Ramalho et al. (2012b), as estimativas dos componentes da variabilidade existente em uma população e sua relação com as diferenças genéticas são fundamentais em qualquer programa de melhoramento, pois permite conhecer o controle genético do caráter e o potencial da população para a seleção.

Estimativas de componentes de variância genética confiáveis orientam os melhoristas na seleção de indivíduos superiores em populações segregantes em um programa de melhoramento (Borém e Miranda 2013). Pesquisas relatadas na literatura têm constatado que o feijão-caupi é um bom exemplo de ampla variabilidade genética de características agrônômicas, nutricionais e culinários (Matos Filho et al. 2009, Andrade et al. 2010, Silva e Neves 2011).

O acompanhamento da população segregante possibilita ao melhorista o controle de sua população e de seus métodos. No entanto, a eficiência dos métodos adotados depende de informações que podem ser preditas por meio dos componentes de variância. Assim, a obtenção destes componentes tem sido de fundamental importância no melhoramento genético (Passos et al. 2011, Cruz et al. 2012).

Na genética e no melhoramento, as estimativas de parâmetros genéticos como coeficiente de herdabilidade, ganho esperado com a seleção e correlação entre características são obtidas por meio dos componentes da variância (Ramalho et al. 2012).

1.2.7. Componentes de média e da variância genética

No melhoramento vegetal, tão importante quanto o genótipo de um indivíduo na população é a capacidade desse genótipo transmitir suas características aos seus descendentes. Dessa forma, o conhecimento sobre a variabilidade genética existente na população e quanto dessa variabilidade é devido a cada um dos componentes da variância genética torna-se de fundamental importância no melhoramento, uma vez que a seleção realizada só será eficaz se recair sobre a parte herdável da variância total (Ramalho et al. 2012b).

A estimação dos componentes de variância é de grande importância, tanto na estatística experimental quanto na genética e no melhoramento vegetal. Na estatística experimental, é fundamental para indicação da expressão adequada do teste F. Em relação à genética e ao melhoramento, as estimativas dos componentes da variância

Costa, I. G. Genética de gerações segregantes de feijão-caupi quanto à fixação biológica de nitrogênio são utilizadas para se obter outras estimativas, tais como: coeficiente de herdabilidade, ganho esperado com a seleção e correlação entre características (Ramalho et al. 2005).

Os componentes de variância são muito importantes no melhoramento genético de plantas, tendo em vista que os parâmetros genéticos permitem a escolha do método de melhoramento e da população a serem utilizados e as estimativas desses parâmetros podem ser obtidas por meio dos componentes de variância.

Estes componentes representam as variâncias associadas aos efeitos de um modelo estatístico e podem ser obtidos com base em esperanças matemáticas, onde são utilizados os quadrados médios da análise de variância realizada conforme o delineamento genético e experimental mais apropriado (Ramalho et al. 2005).

Os componentes de variância auxiliam nas decisões sobre a escolha de métodos de melhoramento vegetal mais eficientes para o desenvolvimento de cultivares superiores (Cruz 2005) e somente com o conhecimento desses parâmetros, o melhorista pode tomar decisões acertadas sobre os métodos a serem seguidos.

Para verificar a existência de variabilidade entre os genótipos de feijão-caupi, pesquisadores determinaram os seguintes componentes: variância ambiental, fenotípica e genotípica; coeficiente de variação experimental e genotípico; coeficiente de determinação genotípica; quociente b; correlações ambientais, fenotípicas e genotípicas (Matos Filho et al. 2009, Andrade et al. 2010, Correa et al. 2012, Correa et al. 2015, Meira et al. 2017) e constataram que os germoplasmas em estudo mostraram-se, a princípio, promissores para trabalhos de seleção ou hibridações objetivando a melhoria das características avaliadas.

1.2.8. Coeficiente de variação genético

O coeficiente de variação genético (CVg) tem como objetivo informar sobre a variabilidade da população, tendo a média como referência. Esse é um parâmetro que possibilita a comparação da variabilidade existente em diferentes populações, ou dentro da mesma população para diversas características. O CVg representa a razão entre o desvio-padrão genético e a média da população, ou seja, expressa a magnitude da variação genética em relação à média do caráter e se constitui em um bom referencial, pelo fato de ser um parâmetro adimensional e diretamente proporcional à variância genética (Ramalho et al. 2012).

O coeficiente de variação genético tem grande importância porque pode interferir na magnitude da variabilidade da população em diferentes características, possibilitando comparar os níveis de variabilidade genética presentes em diferentes genótipos, ambientes e características (Ferrão et al. 2008).

A variabilidade genética em feijão-caupi ocorre, praticamente, para todas as características (Matos Filho et al. 2009, Andrade et al. 2010, Correa et al. 2012, Correa et al. 2015, Meira et al. 2017).

Estimativas de coeficiente de variação genético elevadas indicam maior variabilidade para o caráter, sendo altamente promissor para a realização de seleção visando a obtenção de ganhos no melhoramento genético. Outra vantagem de estimar coeficiente de variação genético é o fato de ser um indicador da grandeza relativa das mudanças que possam ser conseguidas em cada característica por meio da seleção, ou seja, um indicador do ganho genético (Rangel et al. 2000, Ferrão et al. 2008, Andrade et al. 2010).

1.2.9. Herdabilidade

Nos programas de melhoramento de culturas, de qualquer espécie, é essencial o conhecimento sobre o montante da variabilidade genética existente nas espécies para várias características (Ajayi et al. 2014). Deve-se saber a variabilidade que há nas populações e também quanto dessa variabilidade é herdável, pois isto permite estimar parâmetros genéticos de grande utilidade como a herdabilidade, um dos que mais contribui para os trabalhos de melhoramento. Segundo Bueno et al. (2006), a estimativa de coeficientes de herdabilidade permite avaliar se a superioridade fenotípica dos caracteres é de origem genética.

A herdabilidade é um indicativo de que a característica pode ser transmitida aos seus descendentes; no sentido amplo inclui a aditividade, dominância e epistasia, e no sentido restrito somente a aditividade na proporção da variância genética total (Carvalho et al. 2001).

A herdabilidade é uma ferramenta de grande potencial, possibilitando a estimação do ganho na seleção e a definição da estratégia a ser utilizada para a seleção dos melhores genótipos (Brim 1973, Fehr 1993).

A herdabilidade surgiu para quantificar se as diferenças entre os indivíduos são de origem genética ou derivadas de fatores ambientais. Ela fornece a proporção da variância genética existente na variância fenotípica total, que pode ser perpetuada via

Costa, I. G. Genética de gerações segregantes de feijão-caupi quanto à fixação biológica de nitrogênio seleção, ou seja, a proporção da variância genética que há na variância fenotípica total, estimando a confiabilidade do valor fenotípico como indicador do valor reprodutivo (Horner e Frey 1957, Ramalho et al. 2012a).

Desta forma, a herdabilidade possui um papel preditivo estimando a confiabilidade do valor fenotípico como indicador do valor reprodutivo (Bernardo 2010).

Dentre as utilidades do conhecimento sobre a herdabilidade do caráter, a que tem maior destaque num programa de melhoramento é seu papel preditivo, que expressa a confiabilidade do valor fenotípico como estimador do valor genotípico, de tal forma que, quanto maior a herdabilidade, maior será o ganho por seleção para essa característica (Ramalho et al. 2012a, 2012b).

A herdabilidade de um caráter métrico é muito importante porque expressa a proporção da variância total que é atribuída ao efeito médio dos genes, determinando o grau de semelhança entre parentes (Falconer 1996). Sendo a herdabilidade alta, para determinado caráter, indica que a seleção individual de plantas para esse caráter deve ser efetiva nas primeiras gerações segregantes; sendo baixa, a prática da seleção para esses caracteres deve ser feita em gerações mais avançadas quando se espera que o valor genético da progênie seja mais precisamente avaliado (Camargo et al. 1998).

Entretanto, a elevada pressão de seleção nas gerações precoces com características de alta herdabilidade pode ocasionar diminuição da variabilidade genética para outras características que possuem baixa herdabilidade (Brim 1973). Para Cruz (2005), a herdabilidade sendo alta, haverá alta correlação entre o valor fenotípico e o valor genético.

Existem alguns métodos para se calcular a herdabilidade em plantas autógamas, no entanto, a escolha do melhor deles depende dos recursos genéticos disponíveis e do objetivo do uso das estimativas (Baldissera et al. 2014).

A herdabilidade pode ser estimada de duas formas, uma no sentido restrito e outra no sentido amplo. No sentido restrito considera apenas a variância genética aditiva, ou seja, aquela que é fixada pela seleção. Assim, a herdabilidade no sentido restrito é a razão entre a variância genética aditiva e a variância fenotípica e, devido a isso, na maioria dos casos, é a mais importante para os melhoristas. Já a herdabilidade no sentido amplo considera a variância genética total em relação à variância fenotípica e tem maior importância em casos de plantas que apresentam

Costa, I. G. Genética de gerações segregantes de feijão-caupi quanto à fixação biológica de nitrogênio reprodução vegetativa onde o genótipo é integralmente herdado (Pierce 2013, Ramalho et al. 2012b).

De acordo com Hanson (1963), a herdabilidade no sentido restrito pode ser utilizada para estimar o real melhoramento do processo de seleção, já a herdabilidade no sentido amplo pode ser considerada como o limite superior da herdabilidade restrita.

As estimativas de herdabilidade são obtidas em porcentagem e quanto maior for o seu valor maior será a contribuição da variância genotípica. Nesse sentido, características com baixa herdabilidade podem ser melhoradas por seleção indireta, pela seleção de outras características correlacionadas que possuem alta herdabilidade (Shimelis e Shiringani 2010).

O símbolo usualmente empregado para herdabilidade é representado por h^2 , não sendo elevado ao quadrado (Falconer 1996). Quando $h^2=1$, o fenótipo é completamente definido pelo genótipo, não havendo influência do ambiente sobre a magnitude do caráter, e sendo $h^2 = 0$, a variabilidade do caráter não tem origem genética (Allard 1999).

Para um caráter estudado, a herdabilidade não possui valor constante, estando relacionada com uma determinada população, determinado ambiente, o modelo genético adotado e a precisão experimental (Fehr 1993, Falconer 1996). As diferenças para a herdabilidade são compreensíveis, pois nos estudos são envolvidos diferentes tipos de materiais genéticos, avaliados em épocas e ambientes diferentes.

Ribeiro et al. (2012), estudando parâmetros genéticos de características morfológicas de feijão-caupi, observaram existir uma grande variação envolvida nas herdabilidades das características comprimento do ramo principal, comprimento do maior ramo secundário, número de ramos e número de nós por planta.

Na seleção de indivíduos, cabe ao melhorista a tomada de decisões relativa à superioridade dos genótipos com base em informações fenotípicas. Mas é preciso muito cuidado, pois, ao selecionar um genótipo, em detrimento de outro, pode-se estar eliminando genes de interesse ou repassando genes desfavoráveis para a geração seguinte.

Quando o valor fenotípico corresponde ao valor genotípico, as comparações com base em valores fenotípicos têm relação direta com as variações genéticas. Desta maneira, a herdabilidade, como um parâmetro que quantifica as relações das variâncias fenotípicas e genéticas, torna-se uma ferramenta indispensável no melhoramento genético (Cruz et al. 2012).

1.2.10. Correlações entre características

O estudo da magnitude, direção e significância das correlações existentes entre características possui grande importância em programas de melhoramento, pois, em geral, os melhoristas preocupam-se em aprimorar o material genético não para características isoladas, mas para um conjunto destes, simultaneamente. Portanto, a informação sobre essas relações é um subsídio valioso para o melhorista na escolha do procedimento mais eficiente a ser adotado principalmente quando a seleção de um caráter de interesse apresenta dificuldades, por ser de baixa herdabilidade e por apresentar problemas em sua identificação ou medição (Vencovsky e Barriga 1992, Nogueira et al. 2012).

O conhecimento da correlação entre características é muito importante para o melhoramento porque possibilita ao melhorista saber como a seleção para um caráter influencia a expressão de outras características (Silva et al. 2016). Dessa forma, a avaliação do sentido e da amplitude da resposta correlacionada na seleção é de fundamental importância para a obtenção de genótipos superiores para um grupo de características de interesse (Falconer 1996, Cruz 2005).

O coeficiente de correlação é uma medida que representa a variação conjunta entre duas características e também mede a intensidade de associação e a direção linear ou não entre esses. Pode ser realizada a partir da medida de duas características em certo número de indivíduos na população, objetivando aprimorar o material genético para um conjunto de características. Possui causas genéticas e ambientais, mas só as genéticas envolvem associação de natureza herdável, podendo ser utilizada em programas de melhoramento (Cruz et al. 2012). Quanto mais próximo de um, mais forte é a correlação entre as variáveis avaliadas (Charnet et al. 2008).

O coeficiente de correlação: a) é adimensional e seu valor absoluto não ultrapassa a unidade, sendo positivo, quando ocorre aumento nas duas características ou negativo, quando um caráter aumenta e outro diminui; b) quando igual a zero reflete a falta de relação linear e não associativa entre duas características; c) a independência entre duas características ocorre quando a correlação é nula e as características apresentam distribuição normal bidimensional (Cruz et al. 2012).

Segundo Santos et al. (2015) as estimativas dos coeficientes de correlação fenotípica, genotípica e ambiental, para os pares de características em níveis de significância e magnitude são consideradas baixas, quando apresentarem valores inferiores a 0,4; médias entre 0,4 e 0,7; e altas com valores superiores a 0,7. A

Costa, I. G. Genética de gerações segregantes de feijão-caupi quanto à fixação biológica de nitrogênio independência entre duas características ocorre quando a correlação é nula e as características apresentam distribuição normal bidimensional.

A correlação simples permite avaliar a magnitude e o sentido das relações entre duas características, sendo de grande utilidade no melhoramento por possibilitar a seleção indireta, que em alguns casos, pode levar a progressos mais rápidos do que a seleção do caráter desejado. Selecionando características de alta herdabilidade e de fácil aferição, que evidenciem alta correlação com o caráter desejado, pode-se obter progressos mais rápidos em relação à utilização da seleção direta (Cruz et al. 2012).

A correlação constitui-se em uma alternativa de aproveitamento eficiente da variabilidade presente nas populações em curto tempo. Assim, são importantes para determinar a associação entre as características, direcionando nessas, a seleção de forma direta ou indireta. As correlações fenotípicas são diretamente observadas, podendo ocorrer por causas genéticas ou ambientais. A genética é devido à pleiotropia e à ligação gênica. O efeito pleiotrópico expressa o efeito total dos genes que estão em segregação. Por outro lado, a ligação gênica é transitória, podendo ser alterada em gerações avançadas devido à ocorrência de permutas (Cruz 2005, Ramalho et al. 2012a).

Ferreira et al. (2011) encontraram correlação significativa e positiva entre as variáveis NN e MSN em feijão-caupi e também entre as variáveis MSN e MSPA. Segundo esses pesquisadores, os resultados revelaram que o NN, MSN, MSPA e teor NAPA, aumentaram até os 45 DAE.

Chagas Junior et al. (2010), estudando a eficiência agrônômica de estirpes de rizóbios inoculados em genótipos de feijão-caupi no Cerrado, observaram correlação entre MSPA e MSN com aumento da MSPA à medida que houve aumento da biomassa seca de nódulos, evidenciando que as plantas que acumularam maior quantidade de matéria seca de nódulos também acumularam maior quantidade de matéria seca na parte aérea.

Apesar de ser de grande utilidade na quantificação da magnitude e direção das influências dos fatores na determinação de características complexas, o coeficiente de correlação simples não determina a importância dos efeitos diretos e indiretos das características que o compõem (Cruz et al. 2012), necessitando, pois que o melhorista faça uso do desdobramento desse coeficiente que é realizado pela análise de trilha, desenvolvida por Wright (1921) e pormenorizada por Li (1975).

Embora a correlação seja uma característica intrínseca de duas variáveis sob uma determinada condição experimental, sua decomposição depende do conjunto de características estudadas (Cruz et al. 2012).

1.2.11. Análise de trilha

A análise de trilha é um importante artifício da estatística multivariada, que consiste em desdobrar correlações entre características em efeitos diretos e indiretos medindo a influência dessas variáveis sobre uma característica principal (caráter básico), permitindo se escolher a estratégia mais eficaz na seleção, para incrementar o melhoramento genético (Kurek et al. 2001).

Esta técnica baseia-se na definição prévia da variável principal e de outras explicativas cujas inter-relações lineares são decompostas em componentes de efeitos diretos e indiretos, considerando-se um modelo aditivo de regressão linear múltipla e tem sido bastante utilizada em diversos campos da pesquisa experimental (Cabral et al. 2011, Moura et al. 2012, Oliveira et al. 2013, Almeida et al. 2014, Freitas et al. 2016).

O coeficiente de trilha, de caminhamento ou análise de causa e efeito é um método que analisa um sistema de múltiplas características, relacionadas de modo linear e inclui todos os fatores básicos (causas) e suas características resultantes (efeitos), como um coeficiente de regressão padronizado porque é composto por uma equação de regressão múltipla quando inter-relações complexas estão envolvidas (Li 1975).

O coeficiente de determinação (R^2) é um indicador da adequação do modelo utilizado e mede os efeitos das variáveis explicativas sobre a variável principal (Kurek et al. (2001). Se R^2 tiver um valor próximo da unidade é aceito que as variações na variável principal são explicadas em grande parte pelas variações das variáveis explicativas (Borges et al. 2011).

A metodologia do coeficiente de trilha pode, portanto, melhor auxiliar o melhorista de plantas, por permitir a visualização do efeito direto que uma variável causa em outra e dos efeitos indiretos das outras características relacionadas (Paiva et al. 1982).

Cruz et al. (2012) apresentaram algumas propriedades associadas à metodologia da análise de trilha: 1) a trilha (“path”) é direcional e seus coeficientes, os quais expressam os efeitos diretos de características, podem assumir valores maiores

Costa, I. G. Genética de gerações segregantes de feijão-caupi quanto à fixação biológica de nitrogênio que a unidade, negativos ou positivos; 2) pode ser usada para comparar efeitos de características mensuráveis em escalas diferentes, pois é um coeficiente de regressão padronizado; 3) duas características podem não ser correlacionadas, mas o coeficiente de trilha pode assumir valores diferentes de zero; 4) duas características podem ser completamente determinadas pela mesma causa em comum e, mesmo assim, não apresentarem correlação.

A análise de trilha tem sido empregada com sucesso em muitos programas de melhoramento genético vegetal com o objetivo de entender os artifícios, as causas e os efeitos, envolvendo a associação entre características, como também, de decompor a correlação existente em efeitos diretos e indiretos através de uma variável considerada principal associada a algumas características secundárias (Kurek et al. 2001).

Nas referências bibliográficas encontram-se diversos trabalhos com análise de trilha em várias culturas de importância econômica, como feijão comum, soja, açaí, cana-de-açúcar e mamão (Cabral et al. 2011, Nogueira et al. 2012, Teixeira et al. 2012, Espósito et al. 2012, Silva et al. 2016).

1.2.12. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abate T, Alene AD, Shiferaw DBB, Silim S, Orr A and Asfaw S (2012) **Tropical grain legumes in Africa and South Asia: knowledge and opportunities**. International Crops Research Institute for the Semi Arid Tropics, Nairobi, 112 p.

Abreu AFB, Ramalho MAP and Santos JB (2002) Prediction of seed-yield potential of common bean populations. **Genetics and Molecular Biology 25**: 323-327.

Ajayi AT, Adekola MO, Taiwo BH and Azuh VO (2014) Character Expression and Differences in Yield Potential of Ten Genotypes of Cowpea (*Vigna unguiculata* L.Walp). **International Journal of Plant Research 4**: 63-71.

Alcantara RMCM, Xavier GR, Rumjanek NG, Rocha MM and Carvalho JS (2014) Symbiotic efficiency in Parentes of Brazilian cultivars of the cowpea. **Revista Ciência Agronômica 45**: 1-9.

Allard RW (1999) **Principles of plant breeding**. J. Wiley, New York, 485p.

Costa, I. G. Genética de gerações segregantes de feijão-caupi quanto à fixação biológica de nitrogênio

Almeida ALG, Alcântara RMCM, Nóbrega RSA, Nóbrega JCA, Leite LFC e Silva JAL (2010) Produtividade do feijão-caupi cv. BR 17 Gurguéia inoculado com bactérias diazotróficas simbióticas no Piauí. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias 5**: 364-369.

Almeida WS, Fernandes FRB, Teófilo EM and Bertini CHCM (2014) Correlation and path analysis in components of grain yield of cowpea genotypes. **Revista Ciência Agronômica 45**: 726-736.

Andrade FN, Rocha MM, Gomes RLF, Freire Filho FR e Ramos SRR (2010) Estimativas de parâmetros genéticos em genótipos de feijão-caupi avaliados para feijão fresco. **Revista Ciência Agronômica 41**: 253-258.

Baldissera JNC, Valentini G, Coan MMD, Guidolin AF e Coimbra JLM (2014) Fatores genéticos relacionados com a herança em populações de plantas autógamas. **Revista de Ciências Agroveterinárias 13**: 181-189.

Balota EL, Machineski O and Scherer A (2012) Mycorrhizal effectiveness on physic nut as influenced by phosphate fertilization levels. **Revista Brasileira de Ciência do Solo 36**: 23-32.

Bastos VJ, Melo DA, Alves JMA, Uchôa SCP, Silva PMC e Teixeira Junior DL (2012) Avaliação da fixação biológica de nitrogênio em feijão-caupi submetido a diferentes manejos da vegetação natural na savana de Roraima. **Revista Agro@mbiente Online. 6**: 133-139.

Belane AK and Dakora FD (2010) Symbiotic N₂ fixation in 30 field-grown cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.) genotypes in the Upper West Region of Ghana measured using ¹⁵N natural abundance. **Biology and Fertility of Soils 46**: 191-198.

Bernardo R (2010) **Breeding for quantitative traits in plants**. Woodbury: Minnesota, 368 p.

Bertan I, Carvalho FIF and Oliveira AC (2007) Parental selection strategies in plant breeding programs. **Journal of Crop Science and Biotechnology 10**: 211-222.

Costa, I. G. Genética de gerações segregantes de feijão-caupi quanto à fixação biológica de nitrogênio
Bezerra AAC, Távora FJAF, Freire Filho FR e Ribeiro VQ (2008) Morfologia e produção de grãos em linhagens modernas de feijão-caupi submetidas a diferentes densidades populacionais. **Revista de Biologia e Ciência da Terra 8**: 85-92.

Bezerra AAC, Távora FJAF, Freire Filho FR e Ribeiro VQ (2009) Características de dossel e de rendimento em feijão-caupi ereto em diferentes densidades populacionais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira 44**: 1239-1245.

Borém A e Miranda GV (2013) **Melhoramento de Plantas**. 6 ed, Editora da UFV, Viçosa, 523p.

Borges PRS, Saboya RCC, Saboya LMF, Santos ER e Souza SEA (2012) Distribuição de massa seca e rendimento de feijão-caupi inoculadas com rizóbio em Gurupi (TO). **Caatinga 25**: 37-44.

Borges V, Sobrinho FS, Léo FJS e Kopp MM (2011) Associação entre caracteres e análise de trilha na seleção de progênies de meios-irmãos de *Brachiaria ruziziensis*. **Revista Ceres 58**: 765-772.

Brasil (2008) Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 12, de 28 mar. 2008**. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, 31 mar. 2008. Seção 1, p. 11-14.

Brasil (2011) Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução normativa nº 13, de 24 de março de 2011**. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, 25 mar. 2011. Seção 1, p. 3-7.

Brim CA (1973) Quantitative genetics and breeding. In: Caldwell B. E (ed) **Soybeans: improvement, production and uses**. America Society of Agronomy: Madison, p. 158-161.

Brito MMP, Muraoka T e Silva EC (2011) Contribuição da fixação biológica de nitrogênio, fertilizante nitrogenado e nitrogênio do solo no desenvolvimento de feijão e caupi. **Bragantia 70**: 206-215.

Costa, I. G. Genética de gerações segregantes de feijão-caupi quanto à fixação biológica de nitrogênio

Bueno LCS, Mendes ANG e Carvalho SP (2006) **Melhoramento de plantas: princípio e procedimentos**. Editora da UFLA, Lavras, 319 p.

Butrinowski RT, Butrinowski IT, Santos EL e Santos RF (2015) Adubação nitrogenada e a fixação biológica através do inoculante *Bradyrhizobium japonicum* no desenvolvimento vegetativo da soja. **Acta Iguazu 4**: 1-9.

Cabral PDS, Soares TCB, Lima ABP, Soares YJB e Silva JA (2011) Análise de trilha do rendimento de grãos de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) e seus componentes. **Revista Ciência Agronômica 42**: 132-138.

Camargo CEO, Ferreira Filho AWP e Felício JC (1998) Herdabilidade e correlações entre características agronômicas em populações híbridas de trigo. **Bragantia [online]**: 57.

Canfield DE, Glazer NA and Falkowski PG (2010) The evolution and future of earth's nitrogen cycle. **Science 330**: 192–196.

Carneiro JES, Ramalho MAP, Abreu AFB and Gonçalves FMA (2002) Breeding potential of single, double and multiple crosses in common bean. **Crop Breeding and Applied Biotechnology 2**: 515-524.

Carvalho FIF, Silva AS, Kurek AJ e Marchioro VS (2001) **Estimativas e implicações da herdabilidade como estratégia de seleção**. Editora da UFPel, Pelotas, 99 p.

Chagas Junior AF, Rahmeier W, Fidelis RR, Santos GR and Chagas LFB (2010) Agronomic efficiency of Rhizobium strains inoculated in cowpea in the Cerrado, Gurupi, TO. **Revista Ciência Agronômica 41**: 709-714.

Charnet R, Freire CDL, Charnet EM e Bonvino H (2008) **Análise de modelos de regressão linear com aplicações**. 2ª Ed, Editora da Unicamp, Campinas, 357 p.

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. **Levantamento de grãos 2016/2017**. Disponível em:

Costa, I. G. Genética de gerações segregantes de feijão-caupi quanto à fixação biológica de nitrogênio http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/18_02_08_17_09_36_fevereiro_2018.pdf. Acesso em: 01 mar. 2018.

Correa AM, Braga DC, Ceccon G, Oliveira LVA, Lima ARS e Teodoro PE (2015) Variabilidade genética e correlações entre caracteres de feijão-caupi. **Revista Agro@ambiente On-line 9**: 42-47.

Correa AM, Ceccon G, Correa CMA e Delben DS (2012) Estimativas de parâmetros genéticos e correlações entre caracteres fenológicos e morfoagronômicos em feijão-caupi. **Revista Ceres 59**: 88-94.

Costa EM, Nóbrega RSA, Martins LV, Amaral FHC e Moreira FMS (2011) Nodulação e produtividade de *Vigna unguiculata* (L.) Walp. por cepas de rizóbio em Bom Jesus, PI. **Revista Ciência Agronômica 42**: 1-7.

Cruz CD (2005) **Princípios de genética quantitativa**. 1ª ed, Editora da UFV, Viçosa, 394 p.

Cruz CD, Regazzi AJ e Carneiro PCS (2012) **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. 4ª ed, Editora da UFV, Viçosa, 514 p.

Dey R, Pal KK, Bhatt DM and Chauhan SM (2004) Growth promotion and yield enhancement of peanut (*Arachis hypogaea* L.) by application of plant growth-promoting rhizobacteria. **Microbiological Research 159**: 371-394.

Espósito DP, Peternelli LA, Paula TOM e Barbosa MHP (2012) Análise de trilha usando valores fenotípicos e genotípicos para componentes do rendimento na seleção de famílias de cana-de-açúcar. **Ciência Rural 42**: 12-19.

Falconer DS and Mackay TF (1996) **Introduction to quantitative genetics**. 4th edn, Longman Group, Londres, 464 p.

FAO (2017) **Food and Agriculture Organization of the United Nations**. Crops: cow peas, dry. Disponível em: <<http://faostat3.fao.org/browse/Q/QC/E>>. Acesso em: 25 fev. 2017.

Costa, I. G. Genética de gerações segregantes de feijão-caupi quanto à fixação biológica de nitrogênio

Farias TP, Soares BL, Araújo ARA and Moreira FMS (2016) Symbiotic efficiency of rhizobia strains with cowpea in Southern Maranhão. **Revista Caatinga 29**: 611- 618.

Fatokun CA, Tarawali SA, Singh BB, Kormawa PM and Tamò M (2000) **Challenges and opportunities for enhancing sustainable cowpea production**. In: World cowpea conference held at the International Institute of Tropical Agriculture, 3., Ibadan. Proceeding. Ibadan: IITA, 2000. p. 4-8.

Fehr WR (1993) **Principles of cultivar development: theory and technique**. MacMillan, New York, 536 p.

Fernandes Júnior PI, Silva Júnior EB, Silva Júnior S, Santos CERS, Oliveira PJ, Rumjanek NG, Xavier GR and Martins LMV (2012) Performance of polymer compositions as carrier to cowpea rhizobial inoculant formulations: survival of rhizobia in pre-inoculated seeds and field efficiency. **African Journal of Biotechnology 11**: 2945-2951.

Ferrão RG, Cruz CD, Ferreira A, Cecon PR, Ferrão MAG, Fonseca AFA da, Carneiro PCS e Silva MF (2008) Parâmetros genéticos em café Conilon. **Pesquisa Agropecuária Brasileira 43**: 61-69.

Ferreira EPB, Martins LMV, Xavier GR e Rumjanek NG (2011) Nodulação e produção de grãos em feijão-caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp.) inoculado com isolados de rizóbio. **Revista Caatinga 24**: 27-35.

Freire Filho FR, Rocha MM, Ribeiro VQ, Rocha MM, Damasceno-Silva KJ, Nogueira MSR e Rodrigues EV (2011) **Feijão-caupi no Brasil: produção, melhoramento genético, avanços e desafios**. Embrapa Meio-Norte: Teresina, 84 p.

Freitas, TGG, Silva PSL, Dovale JC and Silva EM (2016) Green bean yield and path analysis in cowpea landraces. **Revista Caatinga 29**: 866-877.

Gualter RMR, Boddey RM, Rumjanek NG, Freitas ACR and Xavier GR (2011) Agronomic efficiency of rhizobia strains in cowpea cultivated in the Pre-Amazon region, in Maranhao State. **Pesquisa Agropecuária Brasileira 46**: 303-308.

Costa, I. G. Genética de gerações segregantes de feijão-caupi quanto à fixação biológica de nitrogênio

Gualter RMR, Leite LFC, Araújo ASF, Alcantara RMCM e Costa DB (2008) Inoculação e adubação mineral em feijão-caupi: Efeitos na nodulação, crescimento e produtividade. **Scientia Agraria 9**: 469-474.

Hanson WD (1963) Heritability. In: Hanson WD, Robinson HF. **Statistical Genetics and Plant Breeding**. National Academy of Science and National Research Council, Washington, p.125-139.

Hara FAZ e Oliveira LA (2007) Características fisiológicas e ecológicas de isolados de rizóbios oriundos de solos ácidos e álicos de Presidente Figueiredo, Amazonas. **Acta Amazônica 34**: 343-357.

Herder GD, Isterdael GV, Beeckman T and Smet I D (2010). The roots of a new green revolution. **Trends Plant Sci. 15**: 600–607.

Horner TW and Frey KJ (1957) Methods for determining natural areas for oat varietal recommendations. **Agronomy Journal 49**: 313-315.

Jinks JL and Pooni HS (1976) Predicting the properties of recombinant inbred lines derived by single seed descent. **Heredity 36**: 253-266.

Kurek AJ, Carvalho FIF, Assmann IC, Marchioro VS e Cruz PJ (2001) Análise de trilha como critério de seleção indireta para rendimento de grãos em feijão. **Revista Brasileira de Agrociência 7**: 29-32.

Laurindo RDF, Laurindo BS, Delazari FT, Carneiro PCS e Silva DJH (2017) Potencial de populações segregantes de abóbora para teor de óleo nas sementes. **Revista Ceres 64**: 582-591.

Leite J, Fischer D, Rouws LFM, Fernandes-Júnior PI, Hofmann A, Kublik S, Schlöter M, Xavier GR and Radl V (2017) Cowpea Nodules Harbor Non-rhizobial Bacterial Communities that Are Shaped by Soil Type Rather than Plant Genotype. **Frontiers in Plant Science 7**: 2064.

Costa, I. G. Genética de gerações segregantes de feijão-caupi quanto à fixação biológica de nitrogênio

Leite J, Passos SR, Simões-Araújo JL, Rumjanek NG, Xavier GR and Zilli JE (2017) Genomic identification and characterization of the elite strains *Bradyrhizobium yuanmingense* BR 3267 and *Bradyrhizobium pachyrrhizi* BR 3262 recommended for cowpea inoculation in Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology 1**: 1-11.

Li CC (1975) **Path analysis**: a primer. Boxwood: Pacific Grove, 346 p.

Marinho RCN, Ferreira LVM, Silva AF, Martins LMV, Nóbrega RSA and Fernandes-Júnior PIF (2017) Symbiotic and agronomic efficiency of new cowpea rhizobia from Brazilian Semi-Arid. **Bragantia 76**: 273-280.

Matos Filho CHA, Gomes RLF, Rocha MM, Freire Filho FR e Lopes ACA (2009) Potencial produtivo de progênies de feijão-caupi com arquitetura ereta de planta. **Ciência Rural 39**: 348-354.

Meira AL, Santana TM, Amaral CLF, Miguel DL e Santos Júnior NS (2017) Estimativas de parâmetros genéticos para características de crescimento em feijão-caupi sob estresse hídrico severo. **Agropecuária Científica no Semiárido 13**: 41-47.

Melo SR e Zilli JE (2009) Fixação biológica de nitrogênio em cultivares de feijão-caupi recomendadas para o Estado de Roraima. **Pesquisa Agropecuária Brasileira 44**: 1177-1183.

Mendes IIC, Reis Junior FB e Cunha MH (2010) **20 perguntas e respostas sobre fixação biológica de nitrogênio**. Documentos 281. Embrapa Cerrados. 19 p.

Mendonça HA, Santos JB and Ramalho MAP (2002) Selection of common bean segregating populations using genetic and phenotypic parameters and RAPD markers. **Crop Breeding and Applied Biotechnology 2**: 219-226.

Moreira FMS (2008) Bactérias fixadoras de nitrogênio que nodulam Leguminosae. In: Moreira FMS, Siqueira JO, Brussaard L. **Biodiversidade do solo em ecossistemas brasileiros**. Editora da UFLA, Lavras, p. 621-680.

Costa, I. G. Genética de gerações segregantes de feijão-caupi quanto à fixação biológica de nitrogênio

Moura JO, Rocha MM, Gomes RLF, Freire Filho FR, Silva KJD and Ribeiro VQ (2012) Path analysis of iron and zinc contents and others traits in cowpea. **Crop Breeding and Applied Biotechnology 12**: 245-252.

Naab JB, Chimphango SMB and Dakora FD (2009) N-2 fixation in cowpea plants grown in farmers' fields in the Upper West Region of Ghana, measured using N-15 natural abundance. **Symbiosis 48**: 37-46.

Neves MCP and Rumjanek NG (1997) Diversity and adaptability of soybean and cowpea rhizobia in tropical soils. **Soil Biology and Biochemistry 29**: 889-895.

Nogueira AP, Sedyama T, Sousa LB, Hamawaki OT, Cruz CD, Pereira DG e Matsuo E (2012) Análise de trilha e correlações entre caracteres em soja cultivada em duas épocas de semeadura. **Bioscience Journal 28**: 877-888.

Nwosu DJ, Olatunbosun BD and Adetiloye IS (2013) Genetic variability, heritability and genetic advance in cowpea genotypes in two agro-ecological environments. **Greener Journal of Biological Science 3**: 202-207.

Oliveira Júnior JOL (2013) **A produção de feijão-caupi com inoculantes**. Pesquisador da Embrapa Meio-Norte. Portal de Agronegócio, 2013. Disponível em: <http://www.portaldogronegocio.com.br/artigo/a-producao-de-feijao-caupi-cominoculantes>. Acesso em: 10 jan. 2017.

Oliveira OMS, Silva JF, Ferreira FM, Klehm CS e Borges CV (2013) Associações genotípicas entre componentes de produção e caracteres agronômicos em feijão-caupi. **Revista Ciência Agronômica 44**: 851-857.

Otubo ST, Ramalho MAP, Abreu AFB and Santos JB (1996) Genetic control of low temperature tolerance in germination of the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Euphytica 89**: 313-317.

Paiva JR, Rossetti AG e Gonçalves P (1982) Uso de coeficiente de caminhamento no melhoramento de seringueira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira 17**: 433-440.

Costa, I. G. Genética de gerações segregantes de feijão-caupi quanto à fixação biológica de nitrogênio

Passos AR, Silva SA, Peixoto CP, Rocha MAC e Cruz EMO (2011) Ganho por seleção direta e indireta em caupi considerando a interação GxE. **Revista da FZVA 18**: 18-33.

Peixoto MP, Peixoto CC, Sampaio LSV, Sampaio HSV, Souza RAS e Almeida JRC (2010) Ação do herbicida alachlor na microbiota do solo, nodulação e rendimento de plantas de amendoim. **Scientia Agraria Paranaensis 9**: 60-70.

Pelegrin R, Mercante FM, Otsubo IMN and Otsubo AA (2009) Resposta da cultura do feijoeiro à adubação nitrogenada e à inoculação com rizóbio. **Revista Brasileira de Ciência do Solo 33**: 219-226.

Pereira HS, Santos JB, Abreu AFB and Couto KR (2007) Informações fenotípicas e marcadores microssatélites de QTL na escolha de populações segregantes de feijoeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira 42**: 707-713.

Pierce BA (2013) **Genética: um enfoque conceitual**. Editora Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 774p.

Pimentel AJB, Ribeiro G, Souza MA, Moura LM, Assis JC e Machado JC (2013) Comparação de métodos de seleção de genitores e populações segregantes aplicados ao melhoramento de trigo. **Bragantia 72**: 113-121.

Ramalho MAP, Abreu AFB e Santos JB (2005) Genetic progress after four cycles of recurrent selection for yield and grain traits in common bean. **Euphytica 144**: 23-29.

Ramalho MAP, Abreu AFB, Santos JB e Nunes AR (2012a) **Aplicações da genética quantitativa no melhoramento de plantas autógamas**. Editora da UFLA: Lavras, 522p.

Ramalho MAP, Ferreira DF e Oliveira AC (2012) **Experimentação em genética e melhoramento de plantas**. 3. Ed, Editora da UFLA: Lavras, 328p.

Ramalho MAP, Santos JB, Pinto CABP, Souza EA, Gonçalves FMA e Souza JC (2012b) **Genética na agropecuária**. Editora da UFLA: Lavras, 565p.

Costa, I. G. Genética de gerações segregantes de feijão-caupi quanto à fixação biológica de nitrogênio

Rangel PHN, Pereira JA, Morais OP, Guimarães EP e Yokokura T (2000) Ganhos na produtividade de grãos pelo melhoramento genético do arroz irrigado no Meio-Norte do Brasil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** **25**: 1595-1604.

Ribeiro AS, Toledo, JFF and Ramalho MAP (2009) Selection strategies of segregant soybean populations for resistance to Asian rust. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** **44**: 1452-1459.

Ribeiro HLC, Santos CAF e Costa DCC (2012) Parâmetros genéticos de caracteres da arquitetura e maturação de grãos do feijão caupi. **Horticultura brasileira** **30**: 4598-4605.

Rocha GS, Carneiro JES, Carneiro PC, Poersch NL, Lima MS e Silva LC (2015) Estratégias de predição e efeitos de ambientes na avaliação de populações segregantes de feijão. **Revista Ceres** **62**: 438-445.

Rodrigues AC, Antunes JEL, Costa AF, Oliveira JP and Figueiredo MVB (2013) Interrelationship of Bradyrhizobium sp. and plant growth-promoting bacteria in cowpea: survival and symbiotic performance. **Journal of Microbiology** **51**: 49-55.

Rufini M, Silva MAP, Ferreira PAA, Cassetari AS, Soares BL, Andrade MJB and Moreira FMS (2014) Symbiotic efficiency and identification of rhizobia that nodulate cowpea in a Rhodic Eutrudox. **Biology and Fertility of Soils** **50**: 15-122.

Saboya RCC, Borges PRS, Saboya LMF, Monteiro FPR, Souza SEA, Santos AF and Santos ER (2013) Response of cowpea to inoculation with nitrogen-fixing strains in Gurupi-Tocantins State. **Journal of Biotechnology and Biodiversity** **4**: 40-48.

Santos A, Braga DC, Correa AM, Melo CLP, Silva JAS, Lima ARS e Rodrigues EV (2015) Escolha de genitores de feijão-comum baseado na divergência genética. **Revista Agrarian** **8**: 235-245.

Santos CERS, Freitas ADS, Vieira IMMB e Colaço W (2008) Fixação simbiótica do N₂ em leguminosas tropicais. In: Figueiredo MVB, Burity HA, Stamford NP, Santos CERS. **Microrganismos e agrobiodiversidade: o novo desafio para a agricultura**. **1**: 26.

Costa, I. G. Genética de gerações segregantes de feijão-caupi quanto à fixação biológica de nitrogênio

Santos CF, Lima GPP e Morgado LB (2010) Tolerância e caracterização bioquímica em feijão-caupi submetido a estresse hídrico na pré-floração. **Naturalia 33**: 34-44.

Santos KC, Uchôa SCP, Melo VF, Alves JMA, Rocha PRR e Ximenes CKS (2014) Inoculação com *Bradyrhizobium* e adubação nitrogenada em feijão-caupi cultivado em diferentes solos. **Revista Agro@ambiente On-line 8**: 306-317.

Santos PG, Soares AA e Ramalho MAP (2001) Predição do potencial genético de populações segregantes de arroz de terras altas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira 36**: 659-670.

Shimelis H and Shiringani R (2010) Variance components and heritabilities of yield and agronomic traits among cowpea genotypes. **Euphytica 176**: 383-389.

Shridhar BS. (2012) Review: nitrogen-fixing microorganisms. **International Journal of Microbiological Research 3**: 46-52.

Silva CA, Schmildt ER, Schmildt O, Alexandre RS, Cattaneo LF, Ferreira JP e Nascimento AL (2016) Correlações fenotípicas e análise de trilha em caracteres morfoagronômicos de mamoeiro. **Revista Agro@ambiente On-line 10**: 217-227.

Silva JAL e Neves JA (2011) Componentes de produção e suas correlações em genótipos de feijão-caupi em cultivo de sequeiro e irrigado. **Revista Ciência Agronômica 42**: 702-713.

Silva Júnior EB, Fernandes Júnior PI, Oliveira PJ, Rumjanek NG, Boddey RM and Xavier GR (2012) Agronomic efficiency of a new rhizobial inoculant formulation for use in cowpea. **Pesquisa Agropecuária Brasileira 47**: 138-141.

Sreerama YN, Sashikala VB and Pratape VM (2012) Phenolic compounds in cowpea and horse gram flours in comparison to chickpea flour: evaluation of their antioxidant and enzyme inhibitory properties associated with hyperglycemia and hypertension. **Food Chemistry 133**: 156-162.

Costa, I. G. Genética de gerações segregantes de feijão-caupi quanto à fixação biológica de nitrogênio

Teixeira DHL, Oliveira MSP, Gonçalves FMA e Nunes JAR (2012) Correlações genéticas e análise de trilha para componentes da produção de frutos de açaizeiro. **Revista Brasileira de Fruticultura 34**: 1135-1142.

Teófilo EM, Dutra AS, Pitombeira JB, Dias FTC e Barbosa FS (2008) Potencial fisiológico de sementes de feijão-caupi produzidas em duas regiões do estado do Ceará. **Revista Ciência Agronômica 39**: 443- 448.

Thies JE, Bohlool BB and Singleton PW (1991) Subgroups of cowpea miscellany: symbiotic specificity within *Bradyrhizobium* spp. for *Vigna unguiculata*, *Phaseolus lunatus*, *Arachis hypogaea*, and *Macroptilium atropurpureum*. **Applied and Environmental Microbiology 57**: 1540-1545.

Triller C and Toledo JFF (1996) Using the F₃ generation for predicting the breeding potential of soybean crosses. **Revista Brasileira de Genética 19**: 289-294.

Vencovsky R e Barriga P (1992) **Genética biométrica no fitomelhoramento**. Sociedade Brasileira de Genética, Ribeirão Preto, 469p.

Vinuesa P (2015) **Rhizobial Taxonomy Up-to-Date [Online]**. Mexico: Universidad Nacional Autonoma de Mexico. [accessed 01 Mar, 2017].

Willems A (2006) The taxonomy of rhizobia: an overview. **Plant and Soil 287**: 3-14.

Wright S. (1921) Correlation and causation. **Journal of Agricultural Research 20**: 557-585.

Zhang WT, Yang JK, Yuan TY and Zhou JC (2007) Genetic diversity and phylogeny of indigenous rhizobia from cowpea [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.]. **Biology and Fertility of Soils 44**: 201-210.

Zilli JE, Marson LC, Marson BF, Rumjanek NG e Xavier GR (2009) Contribuição de estirpes de rizóbio para o desenvolvimento e produtividade de grãos de feijão-caupi em Roraima. **Acta Amazônica 39**: 749-758.

Costa, I. G. Genética de gerações segregantes de feijão-caupi quanto à fixação biológica de nitrogênio

Zilli JE, Silva Neto ML, França Júnior I, Perin L e Melo AR (2011) Resposta do feijão-caupi à inoculação com estirpes de *Bradyrhizobium* recomendadas para a soja. **Revista Brasileira de Ciência do Solo** 35: 739-742.

Zilli JE, Xavier GR e Rumjanek NG (2008) BR 3262: nova estirpe de *Bradyrhizobium* para a inoculação de feijão-caupi em Roraima. **Comunicado Técnico**. Embrapa Roraima, Boa Vista, 7p.

CAPÍTULO II

PARÂMETROS GENÉTICOS EM GERAÇÕES SEGREGANTES DE FEIJÃO-CAUPI QUANTO À FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO

2. PARÂMETROS GENÉTICOS EM GERAÇÕES SEGREGANTES DE FEIJÃO-CAUPI QUANTO À FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO

2.1. Resumo

Com o objetivo de estimar parâmetros relacionados à fixação biológica de nitrogênio (FBN) em cultivares de feijão-caupi, utilizando-se genitores e gerações segregantes, foi conduzido um experimento em bancadas ao ar livre na Estação Experimental de Cana-de-açúcar de Carpina, pertencente à Universidade Federal Rural de Pernambuco, Carpina – PE, Brazil, de março a abril de 2016. Utilizou-se uma mistura de duas estirpes referências de *Bradyrhizobium*, recomendadas para a cultura. As sementes foram plantadas em bolsas de polietileno de 20 cm x 30 cm, tendo como substrato a mistura de vermiculita e areia lavada na proporção de 1:1. Foram avaliados os parentais e as gerações F₂, F₃ e F₄ no delineamento em blocos casualizados com quatro repetições por meio das variáveis número de nódulos por planta (NN), massa seca de nódulos (MSN), massa seca das raízes (MSR), massa seca da parte aérea (MSPA), nitrogênio acumulado na parte aérea (NAPA) e eficiência de nodulação (ENOD), coletados aos 45 dias após a emergência (DAE). Não houve diferença significativa entre as populações para as variáveis MSPA, NAPA e ENOD, porém seus valores médios foram elevados, provavelmente devido à mistura das estirpes BR 3262 e BR 3267. Estes resultados se justificam pela elevada variância ambiental e variância genotípica igual a zero. A FBN nas gerações segregantes mostrou-se tão eficaz quanto nos genitores, permitindo a obtenção de genótipos mais promissores a cada avanço das gerações. A metodologia de Jinks e Pooni é uma alternativa viável na predição do potencial de populações segregantes em gerações mais avançadas de feijão-caupi.

Palavras-chave: Estirpes. Nodulação. *Bradyrhizobium*. *Vigna unguiculata*.

2.2. Abstract

GENETIC PARAMETERS IN SEGREGANT GENERATIONS OF COWPEA ON BIOLOGICAL NITROGEN FIXING

In order to estimate parameters related to biological nitrogen fixation (BNF) in cowpea cultivars, using parents and their segregating generations, an experiment was carried out in outdoor benches at the Carpina Sugarcane Experimental Station of, located at the Zona da Mata region of the State of the Pernambuco, Northeast of Brazil, (Federal Rural University of Pernambuco), from March to April 2016. *Bradyrhizobium* references, recommended for culture, were used as a mixture of two strains. The seeds were planted in 20 cm x 30 cm polyethylene bags, with the mixture of vermiculite and washed sand in a 1:1 ratio as the substrate. Parental and F₂, F₃ and F₄ generations were evaluated in the randomized block design with four replications using the following variables: number of nodules per plant (NN), nodules dry mass (NDM), roots dry mass (RDM), shoots dry mass (SDM), nitrogen accumulated in the shoots (NAS) and nodulation efficiency (NODE), collected at 45 days after emergence (DAE). There were no significant difference between the populations for the variables SDM, NAS and NODE, but their mean values were high, probably due to the mixture of strains BR 3262 and BR 3267. These results are justified by high environmental variance and genotypic variance equal to zero. FBN in the segregating generations proved to be as effective as in the parents, allowing the generation of more promising genotypes at each generation's advance. The Jinks and Pooni methodology is a tool in predicting the potential of segregating populations in more advanced generations of cowpea.

Keywords: Strains. Heritability. *Bradyrhizobium*. *Vigna unguiculata*.

2.3. Introdução

O feijão-caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp.), é uma dicotiledônea de origem africana, conhecido, nas diversas regiões do Brasil, como feijão-de-corda, feijão-macássar, feijão-de-praia e feijão-miúdo. É uma leguminosa pertencente à ordem *Fabales*, família *Fabaceae*, subfamília *Faboideae*, tribo *Phaseoleae*, gênero *Vigna* secção *Catiang* (Freire Filho et al. 2011). Seu cultivo no mundo é realizado em 45 países (Abate et al. 2012) e o continente africano é responsável por mais de 95% da produção mundial (FAO 2017).

O Brasil é o terceiro maior produtor mundial de feijão-caupi, ficando abaixo da Nigéria e do Niger. Estes três países representam juntos 82,46 % da área colhida e 81,92 % da produção mundial (FAO 2017, CONAB 2017). No Brasil, as principais regiões produtoras são Norte e Nordeste, com o feijão-caupi se constituindo no prato

Costa, I. G. Genética de gerações segregantes de feijão-caupi quanto à fixação biológica de nitrogênio básico das populações rurais (Teófilo et al. 2008). Pelo regulamento técnico do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA, existe o feijão-comum (*Phaseolus vulgaris* L.), representando o Grupo I e o feijão-caupi, (*Vigna unguiculata* L. Walp.), o Grupo II (Brasil 2008).

No Brasil, os dados da safra 2016/2017, apontaram o feijão-caupi como o segundo mais plantado do país, com uma área de 1.409,3 hectares, estimativa de produção de 713,0 mil toneladas e produtividade média de 506 Kg.ha⁻¹ (CONAB, 2017).

No Nordeste, a produção do feijão-caupi, tradicionalmente, encontra-se nas áreas semiáridas, onde, devido à irregularidade das chuvas e altas temperaturas, outras culturas anuais não se desenvolvem satisfatoriamente. O cultivo nas regiões Nordeste e Norte é feito principalmente por agricultores familiares que ainda utilizam práticas tradicionais. No Centro-Oeste, passou a ser cultivado em larga escala a partir de 2006, principalmente por médios e grandes empresários, com cultivo tecnificado (Freire Filho et al. 2011).

Além de possuir ciclo curto para maturidade, essa cultura possui tolerância à seca (Santos et al. 2010) e capacidade de obtenção significativa de nitrogênio por meio da fixação biológica, sendo uma boa opção a ser utilizada em rotação de culturas e também na conservação e melhoramento da fertilidade do solo (Sreerama, Sashikala e Pratape 2012).

O emprego da FBN, por meio da associação das leguminosas e bactérias diazotróficas simbiotes, denominadas de rizóbios, tem baixo custo e eleva a produção das plantas de feijão-caupi (Melo e Zilli 2009).

No Brasil, o programa de melhoramento do feijão-caupi, coordenado pela Embrapa Meio-Norte, tem como objetivos principais: o desenvolvimento de cultivares com porte adequado para exploração pela agricultura familiar e agricultura empresarial; o incremento da produtividade e da resistência a estresses hídricos; o aumento dos teores de proteína, ferro e zinco e a melhoria da qualidade visual e culinária dos grãos (Freire Filho et al. 2011).

Pesquisas quanto à FBN em feijão-caupi vêm sendo intensificadas para seleção de estirpes (Almeida et al. 2010, Alcántara et al. 2014), como novos veículos para formulação de inoculantes (Silva Júnior et al. 2012) e objetivando aumentar a produtividade e reduzir os custos de produção (Borges et al. 2012, Saboya et al. 2013, Martins et al. 2015), e os resultados obtidos auxiliaram na intensificação da inoculação do feijão-caupi (Silva Júnior et al. 2012).

No entanto, constata-se uma lacuna nas pesquisas sobre a FBN com relação às características genéticas de gerações segregantes de feijão-caupi comparadas com os seus genitores. Neste contexto, esta pesquisa teve como objetivo avaliar os parâmetros genéticos relacionados à FBN em cultivares de feijão-caupi, utilizadas como genitores, e em suas gerações segregantes.

2.4. Material e métodos

O experimento foi conduzido em bancadas ao ar livre na Estação Experimental de Cana-de-açúcar de Carpina, pertencente à Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), localizada a 7° 51' 04" de latitude sul, 35° 14' 27" de longitude oeste, com 178 m de altitude, clima classificado como Tropical Chuvoso com verão seco na classificação de Köppen. A precipitação pluvial total registrada no período de condução do experimento foi de 426,1 mm favorecendo o desenvolvimento vegetativo da cultura.

As sementes dos parentais e das gerações segregantes foram cedidas pelo Programa de Melhoramento Genético de Feijão-caupi do Instituto Agrônomo de Pernambuco - IPA. As gerações F₂, F₃ e F₄ foram obtidas, neste programa, por meio da realização do cruzamento P₁ x P₂ e das autofecundações das gerações F₁, F₂ e F₃. Foi utilizada como genitor feminino a cultivar BRS Pajeú (P₁) e como genitor masculino a cultivar Patativa (P₂), ambas com características produtivas e padrão comercial.

O cruzamento P₁ x P₂ foi realizado em 2010, na sede do IPA, em Recife, quando foram utilizados polens de flores coletadas pela manhã, mantidas em geladeira por todo o período, até que botões florais fossem emasculados e polinizados na tarde do mesmo dia. A cada ano foram realizadas as autofecundações sucessivas de F₁ a F₅. Essas gerações segregantes foram conduzidas pelo método da descendência de uma única vagem (single pod descent) da geração F₂ à F₅, quando foram abertas as linhagens. Todas as sementes da geração F₁ foram utilizadas para produção da geração F₂. A partir da geração F₂, as sementes das vagens colhidas como indicado, formaram um bulk com as sementes de todas as plantas do mesmo cruzamento. De cada bulk se retirou uma amostra a ser semeada, compondo as plantas da geração seguinte. O restante das sementes de cada cruzamento foi armazenado para realização de experimentos futuros.

Para implantação deste experimento, a semeadura foi realizada no dia 07 de abril de 2016 e a coleta das plantas para avaliação em 26 de maio de 2016. O plantio

foi realizado colocando-se duas sementes por bolsa, para assegurar a germinação e aproveitou-se a plântula mais vigorosa por ocasião do desbaste, que ocorreu aos 15 dias após a emergência (DAE), deixando-se uma planta por bolsa.

Utilizou-se o delineamento experimental de blocos casualizados com quatro repetições, sendo avaliados cinco tratamentos: os dois parentais e as gerações F₂, F₃ e F₄. As sementes foram plantadas em bolsas de polietileno de 20 cm x 30 cm, utilizando-se como substrato a mistura de vermiculita e areia lavada na proporção de 1:1.

As parcelas foram constituídas de 24 plantas (4 fileiras de 6 plantas) para cada um dos parentais e de 76 plantas (4 fileiras de 19 plantas) para cada uma das gerações F₂, F₃ e F₄. Foi colocado um prato de isopor embaixo de cada bolsa e por ocasião do plantio foi realizada a irrigação de todas as plantas deixando os substratos saturados até encher os pratos, os quais receberam a cada dois dias 50 ml da solução nutritiva de Hoagland sem nitrogênio (Hoagland e Arnon 1950).

As estirpes BR 3267 e BR 3262 de *Bradyrhizobium* utilizadas no experimento foram cedidas pela Embrapa Agrobiologia. Para o preparo do inoculante ambas as estirpes foram repicadas em frascos tipo erlenmeyers contendo meio líquido YM (Manitol e extrato de levedura) e incubadas em agitador rotatório (220 rpm; 28°C; 96 h).

Em seguida, o inoculante foi conservado em geladeira. Após a queda dos cotilédones da maioria das plantas, procedeu-se a inoculação das mesmas. Para a inoculação, adicionaram-se 2,5 ml de meio de cultura YM contendo o mix das estirpes BR 3267 e BR 3262 em cada bolsa contendo uma planta de feijão-caupi.

Todos os dados para os componentes de nodulação foram coletados em plantas individuais, inteiras. As plantas foram separadas em raiz e parte aérea, por um corte no ponto de inserção cotiledonar aos 45 DAE, para avaliação das variáveis número de nódulos por planta (NN), massa seca de nódulos (MSN), massa seca das raízes (MSR), massa seca da parte aérea (MSPA), nitrogênio acumulado na parte aérea (NAPA) e eficiência de nodulação (ENOD).

As raízes de todas as plantas foram lavadas sobre peneira para evitar perda de nódulos, sendo estes destacados das raízes para determinação das variáveis NN, MSN e MSR. Os nódulos, as raízes e a parte aérea fresca das plantas foram acondicionados em bolsas de papel e colocados em estufa de circulação de ar a 60-70 ° C até atingir o peso seco constante (\pm 72 h). Após a secagem, a parte aérea de cada planta foi pesada para determinação da MSPA, posteriormente foi moída, em

Costa, I. G. Genética de gerações segregantes de feijão-caupi quanto à fixação biológica de nitrogênio moinho de facas tipo Willey e logo após, submetida à digestão úmida para quantificação do nitrogênio total, pelo método Kjeldahl (Silva 2009).

O NAPA foi calculado a partir do teor de N total, analisado por meio do método Kjeldahl, multiplicado pela massa de matéria seca da parte aérea e a ENOD foi determinada dividindo-se o N total da parte aérea pela massa seca de nódulos (Melo e Zilli 2009).

Os dados de nodulação foram testados quanto à normalidade (teste de Lilliefors) e submetidos à análise de variância. As médias de cada tratamento foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Foram determinados os parâmetros genéticos como as variâncias genotípica (σ^2g), fenotípica (σ^2f) e ambiental (σ^2e) entre as médias das progênies, os coeficientes de variação genético (CVg) e ambiental (CVe), o índice de variação (CVg/CVe), a herdabilidade (h^2) e o coeficiente de variação experimental (CV) para as diferentes variáveis relacionadas à fixação biológica de nitrogênio.

Para estimativa desses parâmetros genéticos, as análises de variância, para todas as variáveis, foram efetuadas segundo o modelo matemático de Cruz, Regazzi e Carneiro 2012. A análise foi realizada em delineamento em blocos casualizados utilizando-se o programa computacional GENES (Cruz 2013). O nível de significância foi calculado pelo teste F. Para as estimativas da variabilidade e demais parâmetros genéticos entre e dentro das gerações segregantes, realizou-se a análise de variância utilizando-se valores individuais das plantas para todas as variáveis.

A predição do potencial das populações segregantes foi realizada pela metodologia de Jinks e Pooni (1976), que estima a probabilidade de cada população originar linhagens que superem um determinado padrão. Essa probabilidade corresponde à área à direita de um determinado valor de x , na abscissa da distribuição normal, calculada utilizando-se as propriedades de uma distribuição normal padronizada, estimando-se a variável Z pela expressão $Z = (x - m)/s$, em que x é a média da linhagem considerada como padrão (L); m é a média das linhagens na geração infinito (F_∞), que, em modelo sem dominância, corresponde à média da geração F_2 e s é o desvio padrão fenotípico entre as linhagens.

2.5. Resultados e discussão

Na análise de variância, utilizando-se a média de cada parcela (Tabela 1), observou-se boa precisão experimental, pois a maioria das variáveis apresentou

Costa, I. G. Genética de gerações segregantes de feijão-caupi quanto à fixação biológica de nitrogênio
coeficientes de variação (CV) baixos, exceto NAPA e ENOD que apresentaram baixas
precisões (22,82) e (32,28).

Tabela 1. Resumo da análise de variância, com base na média de cada parcela, para número de nódulos (NN), massa seca dos nódulos (MSN), massa seca das raízes (MSR), massa seca da parte aérea (MSPA), nitrogênio acumulado na parte aérea (NAPA) e eficiência de nodulação (ENOD).

FV	GL	Quadrados médios					
		NN	MSN	MSR	MSPA	NAPA	ENOD
Blocos	3	179,65	0,0024	0,15	1,00	293310,92	7,041
Populações	4	2358,23**	0,0175 **	0,73**	4,13 ^{ns}	720563,43 ^{ns}	14,48 ^{ns}
Resíduo	12	138,45	0,0012	0,04	3,18	808373,21	21,56
CV%		8,84	9,85	6,05	19,22	22,82	32,28

** e *: significativos ao nível de 1 e 5% de probabilidade, respectivamente pelo teste F: ^{ns}: não-significativo pelo teste F.

Houve diferença significativa a 1% de probabilidade, pelo teste F, entre as gerações estudadas para as variáveis NN, MSN e MSR, demonstrando haver situação desejada pelo melhoramento, ou seja, boa variabilidade genética entre as gerações para essas variáveis. Essas diferenças são um indicativo da possibilidade de ganhos com a seleção para as variáveis.

No estudo da FBN em diferentes genótipos de feijão-caupi, Chagas Junior et al. (2010) observaram diferença significativa entre os genótipos quanto à MSN. Costa et al. (2011) encontraram diferenças significativas para as variáveis NN e MSN, enquanto Zilli et al. (2011) encontraram diferenças não significativas para a variável NN, mas significativas para MSN.

Os quadrados médios de MSPA, NAPA e ENOD não diferiram entre si pelo teste F ($p > 0,05$), indicando que as gerações segregantes apresentaram comportamentos semelhantes aos dos parentais, e entre si, em relação à expressão dessas variáveis. Portanto, as gerações segregantes foram tão eficientes na FBN quanto os seus genitores. Esses resultados corroboraram os encontrados por Almeida et al. (2010), Costa et al. (2011) e Alcantara et al. (2014), quanto à significância para MSPA. Já Chagas Junior et al. (2010) encontraram diferenças significativas para este caráter.

O número médio de nódulos por planta foi de 133,13 (Tabela 2), um valor bastante superior aos obtidos em outros trabalhos (Almeida et al. 2010, Costa et al. 2011, Zilli et al. 2011, Bastos et al. 2012, Saboya et al. 2013, Frigo et al. 2014, Santos et al. 2014).

Tabela 2. Valores médios das variáveis número de nódulos (NN), massa seca dos nódulos (MSN), massa seca das raízes (MSR), massa seca da parte aérea (MSPA), nitrogênio acumulado na parte aérea (NAPA) e eficiência de nodulação (ENOD), aos 45 dias após a emergência.

Populações	NN	MSN (g planta ⁻¹)	MSR (g planta ⁻¹)	MSPA (g planta ⁻¹)	NAPA (mg mg ⁻¹)	ENOD
P ₁	173,69 a	0,46 a	3,88 a	10,52 a	4637,43 a	12,43 a
P ₂	137,95 b	0,36 b	3,32 b	10,19 a	3963,71 a	13,57 a
F ₂	116,30 b	0,29 b	2,72 c	8,86 a	3893,27 a	17,22 a
F ₃	118,61 b	0,30 b	3,05 bc	8,48 a	3659,38 a	15,33 a
F ₄	119,12 b	0,34 b	3,13 bc	8,30 a	3549,33 a	13,36 a
Média	133,13	0,35	3,22	9,27	3940,64	14,39

Médias seguidas de mesmas letras, na coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Segundo Bastos et al. 2012, em condições de campo, no feijão-caupi, , havendo simbiose, considera-se que o número de nódulo acima de 58 e massa seca de nódulos acima de 0,33 g planta⁻¹ são suficientes para garantir um fornecimento de nitrogênio por meio da FBN. Portanto, acredita-se que esses limites podem ser inferiores sem afetar a FBN para a cultura do feijão-caupi.

Possivelmente, estes elevados valores para o NN tenham ocorridos devido à inoculação com uma mistura de duas estirpes recomendadas para o feijão-caupi, tanto quanto por não haver diferença significativa entre as gerações segregantes e o progenitor masculino, portanto havendo herdabilidade quanto a este caráter.

Para a MSN não houve diferença significativa entre as gerações segregantes e o progenitor masculino, portanto também há herdabilidade quanto a este caráter. Esta variável apresentou média de 0,35 grama por planta, valor superior aos obtidos por Almeida et al. (2010), Costa et al. (2011) e Saboya et al. (2013) e um inferior aos constatados por Zilli et al. (2011), Frigo et al. (2014) e Santos et al. (2014).

Para a MSR, um caráter pouco estudado em outros trabalhos, houve diferenças significativas entre as gerações segregantes e seus progenitores e a variável apresentou uma média de 3,22 gramas por planta, valor superior aos obtidos por Bastos et al. 2012 e semelhantes aos encontrados por Frigo et al. (2014).

Apesar de não haver diferenças significativas entre os parentais e as gerações segregantes, os valores médios em grama da MSPA foram superiores aos observados por Costa et al. (2011), Zilli et al. (2011), Silva Júnior et al. (2012), Saboya et al. (2013), e semelhantes aos encontrados por Almeida et al. (2010), Chagas Junior et al. (2010) e Borges et al. (2012).

Neste estudo, provavelmente, as condições climáticas durante o experimento podem ter sido favoráveis à cultura, às bactérias fixadoras de nitrogênio ou a ambas.

Em geral, as respostas do feijoeiro à adubação nitrogenada e à inoculação têm sido variáveis quanto à produção de massa seca da parte aérea, sendo observados efeitos positivos ou, em alguns casos, efeitos não significativos (Pelegri et al. 2009).

De acordo com Gualter et al. (2011), as bactérias fixadoras de nitrogênio podem contribuir de forma significativa com maior fornecimento de N_2 para a planta e, conseqüentemente, com aumento de MSPA.

A MSPA informa também sobre o estado nutricional da planta, onde maiores valores podem inferir uma maior eficiência na translocação de fotoassimilados, entretanto, estudos que avaliem a distribuição de massa seca nas plantas de feijão-caupi inoculados com diferentes estirpes de bactérias fixadoras de N_2 ainda são incipientes (Borges et al. 2012).

Neste trabalho o nitrogênio derivado da fixação biológica (NDFB) foi considerado igual ao NAPA, tendo em vista que a inoculação de bactérias diazotróficas foi a única fonte de nitrogênio para as plantas.

Para o NAPA, também não houve diferenças significativas entre os parentais e as gerações segregantes, entretanto esta variável apresentou valores médios superiores aos encontrados na literatura (Almeida et al. 2010, Costa et al. 2011, Silva Júnior et al. 2012, Alcantara et al. 2014).

Os resultados demonstraram que, apesar de não haver diferenças significativas entre as gerações para esta variável seus valores médios foram bastante elevados em relação a outros trabalhos com inoculação de bactérias fixadoras, provavelmente devido à mistura de duas estirpes recomendadas para feijão-caupi e à herdabilidade desta característica dos genitores para as gerações segregantes.

Essa elevada acumulação de nitrogênio na parte aérea das plantas também levanta a possibilidade de que as gerações segregantes de feijão-caupi são tão eficientes na fixação biológica de nitrogênio quanto os seus genitores.

A ENOD apresentou valores médios bem acima dos observados por Zilli et al. (2011), sugerindo que, provavelmente, a mistura das duas estirpes proporcionou um aumento considerável na eficiência de nodulação.

Com relação aos parâmetros genéticos (Tabela 3), para a característica MSPA observou-se um baixo percentual de herdabilidade média (23,04%) que ocorreu devido à baixa variância genética e elevada variância ambiental.

Tabela 3. Estimativas de parâmetros genéticos para número de nódulos (NN), massa seca de nódulos (MSN), massa seca das raízes (MSR), massa seca da parte aérea (MSPA), nitrogênio acumulado na parte aérea (NAPA) e eficiência de nodulação (ENOD).

Parâmetros	Estimativas					
	NN	MSN	MSR	MSPA	NAPA	ENOD
σ^2_f	589,55	0,0043	0,183	1,031	180140,8	3,62
σ^2_e	34,61	0,0003	0,009	0,794	202093,3	5,39
σ^2_g	554,94	0,0040	0,174	0,237	0	0
h^2 (%)	94,13	93,09	94,80	23,04	0	0
CVg (%)	17,69	18,07	12,93	5,26	0	0
Índice b	2,00	1,84	2,14	0,27	0	0

σ^2_f : variância fenotípica; σ^2_e : variância ambiental; σ^2_g : variância genotípica; h^2 : herdabilidade; CVg: coeficiente de variação genético; índice b= CVg/CVe.

As estimativas de variâncias fenotípicas para as variáveis NN, MSN e MSR apresentaram maiores proporções do componente genotípico em relação ao componente ambiental, indicando baixa influência do ambiente nas variáveis avaliadas e, por isso, essas variáveis apresentaram altos percentuais de herdabilidade. Estimativas de herdabilidade nestas magnitudes indicam que há amplas possibilidades de ganhos genéticos para as variáveis por meio da seleção.

Segundo Andrade et al. (2010), características que apresentam alto componente genético em suas expressões fenotípicas levam à obtenção de ganhos via seleção visual. Nestas condições, essas variáveis são recomendadas para seleção em gerações segregantes.

Em relação ao valor do coeficiente de variação genético (CVg), estimado em 5,26%, foi observada pequena variabilidade entre as famílias para a variável MSPA e também para as variáveis NAPA e ENOD que apresentaram CVg com estimativas iguais a zero. O ideal seria o coeficiente de variação genético atingir um valor acima de 10,0, o que indicaria uma maior variabilidade, possibilitando a realização de seleção, como aconteceu com os resultados apresentados pelas variáveis NN, MSN e MSR.

A razão CVg/CVe ou índice b foi de 0,27 para MSPA, valor considerado baixo. De acordo com (Cruz, Regazzi e Carneiro 2012), a condição é favorável para a seleção quando os valores do índice b são próximos ou maiores do que a unidade.

Desta forma, o baixo valor de índice b para o caráter MSPA indica situação não favorável à prática de seleção, tanto quanto para as variáveis NAPA e ENOD que tiveram essa razão igual a zero. Já para as variáveis NN, MSN e MSR, o índice b apresentou valores superiores à unidade, o que os coloca em condições favoráveis para a seleção.

A análise de variância entre e dentro das gerações segregantes (Tabela 4), baseada nos valores individuais de todas as plantas das gerações F₂, F₃ e F₄, demonstrou diferenças significativas (P<0,05 ou P<0,01) pelo teste F, para as variáveis NN, MSN e MSR.

Tabela 4. Resumo da análise de variância, entre e dentro das gerações segregantes, baseada nos valores individuais de todas as plantas, para as variáveis número de nódulos (NN), massa seca dos nódulos (MSN), massa seca das raízes (MSR), massa seca da parte aérea (MSPA), nitrogênio acumulado na parte aérea (NAPA) e eficiência de nodulação (ENOD), aos 45 dias após a emergência.

FV	GL	Quadrados médios					
		NN	MSN	MSR	MSPA	NAPA	ENOD
Blocos	3	1775,30	0,03	2,95	120,84	3272,46	929,54
Gerações	2	5102,18*	0,23*	14,59**	24,35 ^{ns}	541,90 ^{ns}	1196,07 ^{ns}
Entre gerações	6	1061,30	0,05	0,66	128,97	2779,63	846,85
Dentro gerações	900	1317,08	0,01	0,85	16,10	651,34	395,34
Médias		116,50	0,31	2,96	8,55	3637,43	14,80

Esse resultado sugere, portanto, que é possível selecionar indivíduos entre e dentro das progênes que apresentaram melhor desenvolvimento para estes parâmetros e foram coincidentes em significância com os da análise de variância baseada nas médias das variáveis em cada geração (Tabela 1).

No entanto, para as variáveis MSPA, NAPA e ENOD não houve diferenças significativas, indicando que os indivíduos apresentaram comportamentos semelhantes para essas características entre e dentro das gerações analisadas.

Nas estimativas das variâncias genotípicas (Tabela 5), observou-se que as variâncias entre as gerações foram maiores do que as variâncias dentro dessas gerações para as variáveis NN, MSN, MSR e ENOD.

Tabela 5. Estimativas de parâmetros genéticos, entre e dentro das gerações segregantes, para as variáveis número de nódulos (NN), massa seca dos nódulos (MSN), massa seca das raízes (MSR), massa seca da parte aérea (MSPA), nitrogênio acumulado na parte aérea (NAPA) e eficiência de nodulação (ENOD), aos 45 dias após a emergência.

FV	Estimativas das variáveis					
	NN	MSN	MSR	MSPA	NAPA	ENOD
σ^2_{ge}	13,29	0,0006	0,045	0,0	0,0	1,14
σ^2_{gd}	6,64	0,0003	0,022	0,0	0,0	0,57
CVge (%)	3,12	7,77	7,20	0,0	0,0	7,23
CVgd (%)	2,12	5,49	5,09	0,0	0,0	5,11

σ^2_{ge} : variância genotípica entre gerações; σ^2_{gd} : variância genotípica dentro das gerações; CVge: coeficiente de variação genético entre gerações; CVgd: coeficiente de variação genético dentro das gerações.

As estimativas dos coeficientes de variação genética entre as gerações variaram de 3,12 a 7,77 % para NN, MSN, MSR e ENOD, sendo considerados zero para as variáveis MSPA e NAPA, enquanto os coeficientes de variação genética dentro das gerações variaram de 2,12 a 5,49% para NN, MSN, MSR e ENOD, sendo iguais a zero para as variáveis MSPA e NAPA.

As variáveis MSPA e NAPA foram bastante influenciadas pelo ambiente, provavelmente, por esse motivo, os coeficientes de variação genéticos entre e dentro das gerações segregantes, para estas variáveis, tenham apresentado valores iguais a zero. No caso desta pesquisa, considerou-se como ambiente a inoculação das

Costa, I. G. Genética de gerações segregantes de feijão-caupi quanto à fixação biológica de nitrogênio plantas com uma mistura de duas estirpes bacterianas recomendadas para o feijão-caupi pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA.

O bom desenvolvimento das plantas nesse experimento também foi influenciado pelo elevado volume de chuvas durante o período de 49 dias de condução do mesmo (426,1 mm), uma vez que as bancadas estavam instaladas ao ar livre.

O coeficiente de herdabilidade foi alto, variando de 76,0 a 95,4% para as variáveis NN, MSN e MSR. Altas estimativas de herdabilidade ao nível de médias de famílias sugerem um bom controle genético das características e, portanto, possibilidade de sucesso na seleção a partir dessas variáveis.

Para a predição do potencial das populações segregantes (Tabela 6), foi feita uma avaliação das variáveis NN, MSN, MSR e MSPA aplicando-se a metodologia de Jinks e Pooni (1976), que objetiva encontrar linhagens que superem um valor padrão. Para isso, considerou-se como padrão (L) o progenitor feminino BRS Pajeú, cultivar cujos valores médios foram NN (173,69), MSN (0,46), MSR (3,88) e MSPA (10,52) (Tabela 2).

Tabela 6. Predição do potencial das gerações segregantes para as variáveis número de nódulos (NN), massa seca dos nódulos (MSN), massa seca das raízes (MSR) e massa seca da parte aérea (MSPA), aos 45 dias após a emergência.

Variáveis	Z	P (%)
NN	0,67	25,14
MSN	0,84	20,05
MSR	0,74	22,96
MSPA	0,88	18,94

Z: probabilidade de linhagens superiores à cultivar padrão; P: probabilidade de superar o padrão; L: cultivar padrão.

Para a aplicação desse método, considera-se que a média da F_2 é igual à média da geração F_∞ (Cruz, Regazzi e Carneiro 2012). Os valores de Z com suas respectivas porcentagens, indicam a probabilidade de extrair linhagens superiores em uma determinada população.

Observou-se que as características que apresentaram variações genotípicas superiores às variações ambientais (Tabela 3) destacaram-se por apresentarem

Costa, I. G. Genética de gerações segregantes de feijão-caupi quanto à fixação biológica de nitrogênio
probabilidade de superar a cultivar padrão entre 18,94% e 25,14% em gerações segregantes mais avançadas.

Por intermédio da utilização da metodologia de Jinks e Pooni (1976), observou-se que há possibilidade de se obter populações segregantes mais promissoras, inclusive com a probabilidade de produzir linhagens que superem a cultivar padrão BRS Pajeú (P₁).

2.6. Conclusões

A fixação biológica de nitrogênio nas gerações segregantes mostrou-se tão eficaz quanto nos genitores, permitindo a obtenção de genótipos mais promissores a cada avanço das gerações.

A metodologia de Jinks e Pooni se mostrou uma alternativa viável na predição do potencial de populações segregantes em gerações mais avançadas de feijão-caupi.

2.7. Agradecimentos

Ao Instituto Agrônomo de Pernambuco – IPA, pela contribuição e apoio à pesquisa com a doação do material genético.

À Estação Experimental de Cana-de-açúcar de Carpina – EECAC, da UFRPE, pelo apoio logístico e de infraestrutura para execução dos trabalhos de campo e laboratório.

2. 8. Referências bibliográficas

Abate T, Alene AD, Shiferaw DBB, Silim S, Orr A and Asfaw S (2012) **Tropical grain legumes in Africa and South Asia: knowledge and opportunities**. International Crops Research Institute for the Semi Arid Tropics, Nairobi, 112 p.

Alcantara RMCM, Xavier GR, Rumjanek NG, Rocha MM and Carvalho JS (2014) Symbiotic efficiency in Parentes of Brazilian cultivars of the cowpea. **Revista Ciência Agronômica 45**: 1-9.

Costa, I. G. Genética de gerações segregantes de feijão-caupi quanto à fixação biológica de nitrogênio

Almeida ALG, Alcântara RMCM, Nóbrega RSA, Nóbrega JCA, Leite LFC e Silva JAL (2010) Produtividade do feijão-caupi cv. BR 17 Gurguéia inoculado com bactérias diazotróficas simbióticas no Piauí. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias** 5:364-369.

Andrade FN, Rocha MM, Gomes RLF, Freire Filho FR e Ramos SRR (2010) Estimativas de parâmetros genéticos em genótipos de feijão-caupi avaliados para feijão fresco. **Revista Ciência Agronômica** 41: 253-258.

Bastos VJ, Melo DA, Alves JMA, Uchôa SCP, Silva PMC e Teixeira Junior DL (2012) Avaliação da fixação biológica de nitrogênio em feijão-caupi submetido a diferentes manejos da vegetação natural na savana de Roraima. **Revista Agro@mbiente Online**. 6: 133-139.

Borges PRS, Saboya RCC, Saboya LMF, Santos ER e Souza SEA (2012) Distribuição de massa seca e rendimento de feijão-caupi inoculadas com rizóbio em Gurupi (TO). **Caatinga** 25: 37-44.

Brasil (2008) Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 12, de 28 mar. 2008**. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, 31 mar. 2008. Seção 1, p. 11-14.

Chagas Junior AF, Rahmeier W, Fidelis RR, Santos GR and Chagas LFB (2010) Agronomic efficiency of Rhizobium strains inoculated in cowpea in the Cerrado, Gurupi, TO. **Revista Ciência Agronômica** 41: 709-714.

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. **Levantamento de grãos 2016/2017**. Disponível em:

http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/18_02_08_17_09_36_fevereiro_2018.pdf. Acesso em: 01 mar. 2018.

Costa EM, Nóbrega RSA, Martins LV, Amaral FHC e Moreira FMS (2011) Nodulação e produtividade de *Vigna unguiculata* (L.) Walp. por cepas de rizóbio em Bom Jesus, PI. **Revista Ciência Agronômica** 42: 1-7.

Costa, I. G. Genética de gerações segregantes de feijão-caupi quanto à fixação biológica de nitrogênio

Cruz CD (2013) GENES - a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. **Acta Scientiarum** **35**: 271-276.

Cruz CD, Regazzi AJ e Carneiro PCS (2012) **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. 4ª ed, Editora da UFV, Viçosa, 514 p.

FAO (2017) **Food and Agriculture Organization of the United Nations**. Crops: cow peas, dry. Disponível em: <<http://faostat3.fao.org/browse/Q/QC/E>>. Acesso em: 25 fev. 2017.

Freire Filho FR, Rocha MM, Ribeiro VQ, Rocha MM, Damasceno-Silva KJ, Nogueira MSR e Rodrigues EV (2011) **Feijão-caupi no Brasil: produção, melhoramento genético, avanços e desafios**. Embrapa Meio-Norte: Teresina, 84 p.

Friego GR, Guimarães SL, Bonfim-Silva EM and Polizel AC (2014) The inoculation of cowpea culture with rhizobial lineage in Brazilian Cerrado Region. **African Journal of Microbiology Research** **8**: 3150-3156.

Gualter RMR, Boddey RM, Rumjanek NG, Freitas ACR and Xavier GR (2011) Agronomic efficiency of rhizobia strains in cowpea cultivated in the Pre-Amazon region, in Maranhao State. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** **46**: 303-308.

Hoagland D and Arnon DI (1950) **The water-culture method for growing plants without soil**. California Agricultural Experiment Station. Circular 347.

Jinks JL and Pooni HS (1976) Predicting the properties of recombinant inbred lines derived by single seed descent. **Heredity** **36**: 253-266.

Martins JCR, Freitas ADS, Menezes RSC and Sampaio EVSB (2015) Nitrogen symbiotically fixed by cowpea and gliricidia in traditional and agroforestry systems under semiarid conditions. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** **50**: 178-184.

Melo SR e Zilli JE (2009) Fixação biológica de nitrogênio em cultivares de feijão-caupi recomendadas para o Estado de Roraima. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** **44**: 1177-1183.

Costa, I. G. Genética de gerações segregantes de feijão-caupi quanto à fixação biológica de nitrogênio

Pelegrin R, Mercante FM, Otsubo IMN e Otsubo AA (2009) Resposta da cultura do feijoeiro à adubação nitrogenada e à inoculação com rizóbio. **Revista Brasileira de Ciência do Solo** **33**: 219-226.

Saboya RCC, Borges PRS, Saboya LMF, Monteiro FPR, Souza SEA, Santos AF and Santos ER (2013) Response of cowpea to inoculation with nitrogen-fixing strains in Gurupi -Tocantins State. **Journal of Biotechnology and Biodiversity** **4**: 40-48.

Santos CF, Lima GPP e Morgado LB (2010) Tolerância e caracterização bioquímica em feijão-caupi submetido a estresse hídrico na pré-floração. **Naturalia** **33**: 34-44.

Santos KC, Uchôa SCP, Melo VF, Alves JMA, Rocha PRR e Ximenes CKS (2014) Inoculação com *Bradyrhizobium* e adubação nitrogenada em feijão-caupi cultivado em diferentes solos. **Revista Agro@mbiente On-line** **8**: 306-317.

Silva FC (2009) **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**. 2.ed. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica; Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 627p.

Silva Júnior EB, Fernandes Júnior PI, Oliveira PJ, Rumjanek NG, Boddey RM and Xavier GR (2012) Agronomic efficiency of a new rhizobial inoculant formulation for use in cowpea. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** **47**: 138-141.

Sreerama YN, Sashikala VB and Pratape VM (2012) Phenolic compounds in cowpea and horse gram flours in comparison to chickpea flour: evaluation of their antioxidant and enzyme inhibitory properties associated with hyperglycemia and hypertension. **Food Chemistry** **133**: 156-162.

Teófilo EM, Dutra AS, Pitombeira JB, Dias FTC e Barbosa FS (2008) Potencial fisiológico de sementes de feijão-caupi produzidas em duas regiões do estado do Ceará. **Revista Ciência Agronômica** **39**: 443- 448.

Zilli JE, Silva Neto ML, França Júnior I, Perin L e Melo AR (2011) Resposta do feijão-caupi à inoculação com estirpes de *Bradyrhizobium* recomendadas para a soja. **Revista Brasileira de Ciência do Solo** **35**: 739-742.

CAPÍTULO III

CORRELAÇÕES E ANÁLISE DE TRILHA EM GERAÇÕES SEGREGANTES DE FEIJÃO-CAUPI QUANTO À FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO

3. CORRELAÇÕES E ANÁLISE DE TRILHA EM GERAÇÕES SEGREGANTES DE FEIJÃO-CAUPI QUANTO À FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO

3.1. Resumo

Objetivou-se com esta pesquisa avaliar as correlações entre variáveis relacionadas à fixação biológica de nitrogênio (FBN) em gerações segregantes de feijão-caupi e desdobrar essas correlações em efeitos diretos e indiretos, por meio da análise de trilha. Foi conduzido um experimento em bancadas ao ar livre na Estação Experimental de Cana-de-açúcar de Carpina, pertencente à Universidade Federal Rural de Pernambuco, Carpina – PE, Brazil, entre março e abril de 2016. As sementes foram plantadas em bolsas de polietileno de 20 cm x 30 cm, utilizando-se um substrato composto por uma mistura de vermiculita e areia lavada na proporção de 1:1. Utilizou-se uma mistura de duas estirpes referências de *Bradyrhizobium*, recomendadas para a cultura. Foram avaliados os parentais e as gerações F₂, F₃ e F₄ no delineamento em blocos casualizados com quatro repetições. A coleta dos dados foi realizada aos 45 dias após a emergência (DAE). Analisaram-se as correlações fenotípicas e a análise de trilha das variáveis número de nódulos por planta (NN), massa seca de nódulos (MSN), massa seca das raízes (MSR), massa seca da parte aérea (MSPA), eficiência de nodulação (ENOD) e nitrogênio acumulado na parte aérea (NAPA). As correlações fenotípicas entre as variáveis relacionadas à FBN apresentaram altas magnitudes demonstrando existir grande influência de cada uma das variáveis sobre as demais e a análise dos coeficientes de trilha apontou que todos os componentes primários (NN, MSN, MSR, MSPA e ENOD) devem ser considerados quando se deseja aumentar o NAPA em gerações segregantes de feijão-caupi.

Palavras-chave: *Bradyrhizobium*. Estirpes. Progênies. *Vigna unguiculata*.

3.2. Abstract

CORRELATIONS AND PATH ANALYSIS IN SEGREGANT GENERATIONS OF COWPEA ON THE BIOLOGICAL FIXATION OF NITROGEN

The objective of this research was to evaluate the correlations between variables related to the biological nitrogen fixation (BNF) in segregating generations of cowpea

and to unfold these correlations in direct and indirect effects, through path analysis. An outdoor bench experiment was conducted at Carpina Experimental Sugarcane Station of, located at the Zona da Mata region of the State of the Pernambuco, Northeast of Brazil (Federal Rural University of Pernambuco), between March and April 2016. The seeds were planted in 20 cm x 30 cm polyethylene bags, using a substrate composed of a mixture of vermiculite and sand washed in a ratio of 1: 1. Bradyrhizobium references, recommended for culture, were used as a mixture of two strains. Parental and F₂, F₃ and F₄ generations were evaluated in a randomized block design with four replicates. Data collection was performed 45 days after the emergency (AED). Phenotypic correlations and path analysis of the number of nodules per plant (NN), nodules dry mass (NDM), roots dry mass (RDM), dry shoot mass (SDM), nodulation efficiency (NODE) and nitrogen accumulated in the shoots (NAS). The phenotypic correlations between the variables related to the BNF showed high magnitudes, demonstrating that there is a great influence of each of the variables on the others, furthermore the path analysis of the coefficients indicated that all the primary components (NN, NDM, RDM, SDM and NODE) must be considered when it is desired to increase the NAS in segregating generations of cowpea.

Keywords: *Bradyrhizobium*. Strains. Progenies. *Vigna unguiculata*.

3.3 Introdução

O feijão-caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp.) é uma leguminosa consumida como grãos verdes e secos, possuindo elevado teor proteico, curto ciclo para maturidade e tolerância à seca. É uma dicotiledônea de origem africana, conhecida nas diversas regiões do Brasil como feijão-de-corda, feijão-macassar, feijão-de-praia e feijão-miúdo. É cultivada em regiões tropicais e subtropicais da África, Ásia, América, Europa e Oceania (Freitas et al. 2016, Freire Filho et al. 2011).

Esta cultura tem grande importância socioeconômica, sendo a principal fonte de proteína vegetal para populações rurais. Apresenta ampla adaptação edafoclimática com cultivo realizado em cerca de 45 países (Abate et al. 2012), sendo a África responsável por mais de 95% da produção mundial (FAO 2017).

O Brasil é o terceiro maior produtor mundial de feijão-caupi, depois da Nigéria e do Niger. Estes três países representam juntos 82,46 % da área colhida e 81,92 % da produção mundial (FAO 2017, CONAB 2017). No Brasil, as principais regiões

Costa, I. G. Genética de gerações segregantes de feijão-caupi quanto à fixação biológica de nitrogênio produtoras são Norte e Nordeste com expansão para as regiões Centro-Oeste e Sudeste (Rocha et al. 2009). Pelo regulamento técnico do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA, existem o feijão-comum (*Phaseolus vulgaris* L.), representando o Grupo I, e o feijão-caupi, (*Vigna unguiculata* L. Walp.), o Grupo II (Brasil 2008). No Centro-Oeste essa cultura avançou devido ao desenvolvimento de cultivares melhoradas (Freire Filho et al. 2011).

Os dados da safra 2016/2017, apontaram o feijão-caupi como o segundo mais cultivado do Brasil, com uma área de 1.409,3 hectares, estimativa de produção de 713,0 mil toneladas e produtividade média de 506 Kg.ha⁻¹ (CONAB 2017).

O feijão-caupi apresenta capacidade de nodular com vários gêneros de bactérias do grupo dos rizóbios (Zilli et al. 2009), cujo emprego de estirpes tem baixo custo, podendo promover o aumento da produtividade por meio de uma simbiose efetiva (Gualter et al. 2008, Costa et al. 2011).

O estudo das correlações é muito importante em programas de melhoramento, principalmente quando a seleção de um caráter desejável apresenta dificuldades por apresentar baixa herdabilidade e/ou problemas de medição ou identificação (Nogueira et al. 2012). Estimativas de correlação e análise de trilha entre os componentes da FBN permitem aos melhoristas determinarem o procedimento mais eficiente na condução de um programa de melhoramento visando à fixação biológica.

A correlação representa a variação conjunta entre duas características e mede a intensidade de associação e direção linear ou não entre elas. Porém, só a análise de trilha permite compreender as relações entre as variáveis que definem ou influenciam determinada característica de interesse, desdobrando correlações em efeitos diretos e indiretos, medindo a influência dessas variáveis sobre uma característica principal (Wright 1921).

Para que a correlação entre variáveis forneça estimativas e interpretações biologicamente corretas é necessário realizar a análise da multicolinearidade entre as variáveis independentes. Além disso, o pesquisador deve estabelecer previamente a importância do conjunto de variáveis estudadas (Cruz, Regazzi e Carneiro 2012).

A FBN mostra-se indispensável ao desenvolvimento do feijão-caupi (Silva et al. 2011), entretanto, estudos que avaliem as correlações entre variáveis da FBN em gerações segregantes dessa cultura não foram encontrados na literatura. Neste sentido, os objetivos com este estudo foram avaliar as correlações fenotípicas entre variáveis relacionadas à FBN em cultivares de feijão-caupi, utilizadas como genitores,

Costa, I. G. Genética de gerações segregantes de feijão-caupi quanto à fixação biológica de nitrogênio e em suas gerações segregantes e realizar a análise de trilha tendo como caráter principal o acúmulo de nitrogênio na parte aérea das plantas.

3.4. Material e métodos

O experimento foi conduzido em bancadas ao ar livre, em área da Estação Experimental de Cana-de-açúcar de Carpina, pertencente à Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), localizada a 7° 51' 04" de latitude sul, 35° 14' 27" de longitude oeste, com 178 m de altitude, clima classificado como Tropical Chuvoso com verão seco na classificação de Köppen. A precipitação pluvial total registrada no período de condução do experimento foi de 426,1 mm favorecendo o desenvolvimento vegetativo da cultura.

As sementes dos parentais e das gerações segregantes foram cedidas pelo Programa de Melhoramento Genético de Feijão-caupi do Instituto Agrônomo de Pernambuco - IPA. As gerações F₂, F₃ e F₄ foram obtidas, neste programa, por meio da realização do cruzamento P₁ x P₂ e das autofecundações das gerações F₁, F₂ e F₃. Foi utilizada como genitor feminino a cultivar BRS Pajeú (P₁) e como genitor masculino a cultivar Patativa (P₂), ambas com características produtivas e padrão comercial.

O cruzamento P₁ x P₂ foi realizado em 2010, na sede do IPA, em Recife, quando foram utilizados polens de flores coletadas pela manhã, mantidas em geladeira por todo o período, até que botões florais fossem emasculados e polinizados na tarde do mesmo dia. A cada ano realizaram-se as autofecundações sucessivas de F₁ a F₅. Essas gerações segregantes foram conduzidas pelo método da descendência de uma única vagem (single pod descent) da geração F₂ à F₅, quando foram abertas as linhagens. Todas as sementes da geração F₁ foram utilizadas para produção da geração F₂. A partir da geração F₂, as sementes das vagens colhidas como indicado formaram um bulk com as sementes de todas as plantas do mesmo cruzamento. De cada bulk se retirou uma amostra a ser semeada, compondo as plantas da geração seguinte. O restante das sementes de cada cruzamento foi armazenado para realização de ensaios futuros.

Para implantação deste experimento, a semeadura foi realizada em 07 de abril de 2016 e a coleta das plantas para avaliação dos dados foi realizada em 26 de maio de 2016. No plantio foram colocadas duas sementes por bolsa, para um melhor desenvolvimento das plântulas e aproveitamento da mais desenvolvida por ocasião

Costa, I. G. Genética de gerações segregantes de feijão-caupi quanto à fixação biológica de nitrogênio do desbaste, que ocorreu aos 15 dias após emergência (DAE), deixando-se uma planta por bolsa.

O delineamento experimental adotado foi o de blocos casualizados com quatro repetições, sendo avaliados cinco tratamentos: os dois parentais e as gerações F₂, F₃ e F₄. As sementes foram plantadas em bolsas de polietileno de 20 cm x 30 cm, utilizando-se como substrato uma mistura composta por vermiculita e areia lavada na proporção de 1:1.

As parcelas foram constituídas de 24 plantas (4 fileiras de 6 plantas) de cada um dos parentais e de 76 plantas (4 fileiras de 19 plantas) de cada uma das gerações F₂, F₃ e F₄. Foi colocado um prato de isopor embaixo de cada bolsa e por ocasião do plantio foi realizada a irrigação de todas as plantas deixando os substratos saturados até encher os pratos embaixo de cada bolsa, os quais receberam a cada dois dias 50 ml da solução nutritiva de Hoagland sem nitrogênio (Hoagland e Arnon 1950).

As estirpes BR 3267 e BR 3262 de *Bradyrhizobium* utilizadas no experimento foram cedidas pela Embrapa Agrobiologia. Para o preparo do inoculante, ambas as estirpes foram repicadas para frascos tipo erlenmeyers contendo meio líquido YM (Manitol e extrato de levedura) e incubadas em agitador rotatório (220 rpm; 28°C; 96 h). Em seguida, o inoculante foi conservado em geladeira, até que a queda dos cotilédones da maioria das plantas ocorresse, quando as plantas foram inoculadas. Para a inoculação, adicionaram-se 2,5 ml de meio de cultura YM contendo o mix das estirpes BR 3267 e BR 3262, em cada bolsa contendo uma planta de feijão-caupi.

Todos os dados para os componentes de nodulação foram coletados em plantas individuais, inteiras. Estas plantas foram separadas em raiz e parte aérea por um corte no ponto de inserção cotiledonar aos 45 DAE.

As raízes foram lavadas sobre peneira para evitar perda de nódulos, sendo estes destacados das raízes para determinação do número de nódulos (NN), massa seca dos nódulos (MSN) e massa seca das raízes (MSR). Os nódulos, as raízes e a parte aérea fresca das plantas foram acondicionados em bolsas de papel e colocados em estufa de circulação de ar a 60-70 ° C por cerca de 72 horas, até atingir peso constante. Após a secagem a parte aérea foi pesada para determinação da massa seca da parte aérea (MSPA), posteriormente foi moída em moinho de facas tipo Willey e submetida à digestão úmida para quantificação do N total, determinado pelo método Kjeldahl (Silva 2009).

O nitrogênio acumulado na parte aérea (NAPA) foi calculado a partir do teor de N total, analisado por meio do método Kjeldahl, multiplicado pela massa de matéria seca da parte aérea e a eficiência de nodulação (ENOD) foi determinada dividindo-se o N total da parte aérea pela massa seca de nódulos (Melo e Zilli 2009). O nitrogênio derivado da fixação biológica (NDFB) é igual ao NAPA, pois a inoculação de bactérias diazotróficas foi a única fonte de nitrogênio para nutrição das plantas.

Para a determinação das correlações fenotípicas e realização da análise de trilha, as variáveis avaliadas foram NN, MSN, MSR, MSPA, NAPA e ENOD. Para a análise de trilha, a variável NAPA foi considerada como principal e as demais como variáveis explicativas ou secundárias. As estimativas de correlação fenotípica entre variáveis da fixação biológica de nitrogênio e o coeficiente de determinação (R^2) foram determinados segundo o modelo matemático de Cruz, Regazzi e Carneiro 2012.

As significâncias das correlações fenotípicas foram estimadas pelo teste t com $n-2$ graus de liberdade, em que n corresponde ao número de gerações avaliadas. Os desdobramentos destas correlações em efeitos diretos e indiretos foram realizados por meio da análise de trilha desenvolvida por Wright (1921).

Realizou-se o diagnóstico de multicolinearidade da matriz $X'X$ nas variáveis explicativas, com base no número de condição (CN, a relação entre os autovetores maiores e menores da matriz) e o valor determinante da matriz de correlação entre as variáveis analisadas, estabelecido por Montgomery e Peck (1992), em que $NC < 100$ não constitui problema sério (multicolinearidade fraca); sendo $100 < NC < 1000$, apresenta multicolinearidade moderada a forte e $NC > 1000$, ocorre multicolinearidade severa.

Para contornar os efeitos da multicolinearidade, sem a necessidade de descarte de variáveis, foi utilizado o método de regressão em crista (Cruz, Regazzi e Carneiro 2012), em que se adicionou uma variável ($k = 5,2568$) à diagonal da matriz $X'X$. Com esse procedimento, foi possível obter um NC menor que 100, que caracteriza multicolinearidade fraca e não compromete a análise de trilha. Posteriormente, foram realizados os desdobramentos das correlações. Todas as análises foram efetuadas pelo programa computacional Genes (Cruz 2013).

3.5. Resultados e discussão

As estimativas das correlações fenotípicas entre os pares de variáveis foram predominantemente de alta magnitude, acima de 0,7 (Tabela 1), e positivas para a

Costa, I. G. Genética de gerações segregantes de feijão-caupi quanto à fixação biológica de nitrogênio
 maioria das variáveis, sugerindo, inicialmente, que um aumento em qualquer um desses componentes, com exceção da ENOD, causaria aumentos correspondentes na maioria das variáveis.

Tabela 1. Estimativas dos coeficientes de correlação fenotípica (r_f), entre pares, das variáveis número de nódulos (NN), massa seca de nódulos (MSN), massa seca das raízes (MSR), massa seca da parte aérea (MSPA), nitrogênio acumulado na parte aérea (NAPA) e eficiência de nodulação (ENOD) em cinco gerações de feijão-caupi.

Variáveis	MSN	MSR	MSPA	NAPA	ENOD
NN	0,955**	0,929*	0,882*	0,939*	-0,705 ^{ns}
MSN		0,975**	0,792 ^{ns}	0,856 ^{ns}	-0,800 ^{ns}
MSR			0,840 ^{ns}	0,887*	-0,689 ^{ns}
MSPA				0,876*	-0,532 ^{ns}
NAPA					-0,428 ^{ns}

** e *: significativo ao nível de 1 e 5% de probabilidade, respectivamente pelo teste t; ^{ns}: não significativo.

As estimativas dos coeficientes de correlação fenotípica, genotípica e ambiental, para os pares de características em níveis de significância e magnitude são consideradas baixas quando apresentam valores inferiores a 0,4; médias entre 0,4 e 0,7; e altas com valores superiores a 0,7 (Santos et al. 2015).

Utilizaram-se as correlações fenotípicas porque é o fenótipo que é utilizado como base para a seleção. As variáveis fenotipicamente correlacionadas apresentam valor prático de seleção por possuírem alto componente genético em suas expressões fenotípicas, proporcionando a obtenção de ganhos via seleção visual (Andrade et al. 2010).

Observa-se que as variáveis primárias (NN, MSR e MSPA) apresentaram altas correlações positivas e significativas com a variável básica (NAPA). Na interpretação das correlações, três aspectos devem ser considerados: a magnitude, a direção e a significância. Estimativa de coeficiente de correlação positiva indica a tendência de uma variável aumentar quando a outra também aumenta, e correlações negativas indicam tendência de uma variável aumentar enquanto a outra diminui (Nogueira et al. 2012).

Os resultados constataram que os componentes considerados primários estão diretamente relacionados com a variável básica NAPA, porém a variável ENOD tem correlação negativa com essa variável.

O NN foi a variável de maior influência direta sobre o NAPA, pois apresentou correlação significativa e positiva de maior valor (0,939). Para esse caráter, foram observadas correlações positivas e significativas ($P < 0,01$ ou $P < 0,05$) com a maioria das variáveis, como MSN (0,955), MSR (0,929) e MSPA (0,882), com exceção da ENOD. Isso sugere que a seleção de indivíduos com elevados valores para NN pode levar a ganhos em MSN, MSR, MSPA e NAPA.

Esses dados discordam quanto à significância dos dados encontrados por Frigo et al. (2014), que, analisando a inoculação de estirpes de rizóbio em feijão-caupi, entre elas a estirpe comercial BR 3267, obtiveram correlação positiva, mas não significativa, do NN com MSN, MSR, MSPA e NAPA.

Entre as variáveis NN e ENOD se observou uma correlação negativa e não significativa (-0,705), indicando que para essa correlação, a seleção indireta não é eficiente, ou seja, a seleção baseada em NN não resultaria em significativas alterações para ENOD.

O caráter MSN apresentou correlação positiva e significativa com a MSR ($P < 0,01$), positiva, mas não significativa com a MSPA e o NAPA e negativa e não significativa com a ENOD. Chagas Junior et al. (2010), estudando a eficiência agrônômica de estirpes de rizóbios inoculadas em feijão-caupi no Cerrado, observaram um aumento da MSPA à medida que houve aumento da biomassa seca de nódulos (MSN). Campanharo et al. (2010) obtiveram resultados divergentes, onde a MSN apresentou correlação positiva e significativa com o NAPA.

A MSR apresentou correlação positiva e significativa com NAPA (0,887) e positiva, mas não significativa com MSPA e negativa com ENOD. O NAPA apresentou correlações positivas e significativas com NN, MSR e MSPA, correlação positiva, mas não significativa com MSN e negativa com ENOD. Para o caráter NAPA, Frigo et al. (2014) também encontraram resultados discordantes, pois a correlação foi negativa e não significativa com MSPA e MSR, coincidindo apenas a correlação da MSN com NAPA que também foi positiva, mas não significativa.

Observou-se que a ENOD foi o único caráter que se correlacionou negativamente com os demais, este pode ser um dado interessante para o melhoramento do feijão-caupi em relação à FBN, pois indica que a seleção indireta

Costa, I. G. Genética de gerações segregantes de feijão-caupi quanto à fixação biológica de nitrogênio para essas correlações não é eficiente, ou seja, a seleção baseada em qualquer uma dessas variáveis não resultaria em significativos aumentos na ENOD.

Pelas estimativas do desdobramento das correlações em efeitos diretos e indiretos das variáveis explicativas sobre o caráter primário NAPA, por meio da análise de trilha (Tabela 2), verifica-se que o caráter básico foi positivamente influenciado por todas as variáveis explicativas, evidenciando a importância destas variáveis em programas de melhoramento que busquem explorar a eficiência da fixação biológica de nitrogênio no feijão-caupi. O conhecimento da análise de trilha permite estabelecer a estratégia mais eficiente na seleção para incrementar o melhoramento genético de uma cultura.

O caráter NN foi o que diretamente mais contribuiu para explicar o teor de nitrogênio fixado pela planta (NAPA), pois apresentou um efeito total de média magnitude ($0,4 < r < 0,7$) com efeito direto de 0,6313, compensando os efeitos indiretos negativos ocorridos por via da MSR (-0,1554) e da ENOD (-0,3004), por meio dos efeitos indiretos positivos por via da MSN (0,2639) e MSPA (0,1562), resultando em uma estimativa positiva do coeficiente de correlação (0,9396).

Isso demonstra que o NN é um caráter eficiente em praticar-se a seleção indireta com o intuito de se obter ganhos significativos na FBN em parentais e gerações segregantes do feijão-caupi. Desse modo, o melhorista interessado em aumentar o NAPA no feijão-caupi deve aumentar a pressão de seleção sobre o NN, porém não pode desconsiderar as demais variáveis envolvidas na fixação biológica de nitrogênio.

As variáveis MSN, MSR e MSPA apresentaram razoáveis relações positivas com o caráter básico NAPA, porém seus efeitos diretos foram de baixas magnitudes.

Dessa forma, verifica-se que essas correlações ocorreram devido a grande influência do NN, pois os efeitos indiretos sobre o NAPA por via dessa variável foram elevados.

A variável MSN apresentou efeito direto positivo de baixa magnitude (0,2762), porém devido aos efeitos positivos por via das variáveis explicativas NN (0,6031), MSPA (0,1404) e ENOD (0,3409) foi compensado o efeito negativo através da MSR (0,1631), resultando em uma correlação de alta magnitude (0,8565).

Para o caráter MSR o efeito direto foi positivo e de baixa magnitude (0,1673), mas devido aos efeitos positivos por via das variáveis explicativas NN (0,5863), MSN (0,2692) e MSPA (0,1490) foi compensado o efeito negativo através da ENOD (0,2938), resultando em uma correlação de valor elevado com o NAPA (0,8870).

Tabela 2. Estimativas dos efeitos diretos e indiretos dos componentes explicativos da fixação biológica de nitrogênio, sobre o caráter nitrogênio acumulado na parte aérea (NAPA), em cinco gerações feijão-caupi.

Variáveis	Estimativas
NN	
Efeito direto sobre NAPA	0,6313
Efeito indireto via MSN	0,2639
Efeito indireto via MSR	-0,1554
Efeito indireto via MSPA	0,1562
Efeito indireto via ENOD	-0,3004
Total	0,9396
MSN	
Efeito direto sobre NAPA	0,2762
Efeito indireto via NN	0,6031
Efeito indireto via MSR	-0,1631
Efeito indireto via MSPA	0,1404
Efeito indireto via ENOD	0,3409
Total	0,8565
MSR	
Efeito direto sobre NAPA	0,1673
Efeito indireto via NN	0,5863
Efeito indireto via MSN	0,2692
Efeito indireto via MSPA	0,1490
Efeito indireto via ENOD	-0,2938
Total	0,8870
MSPA	
Efeito direto sobre NAPA	0,1772
Efeito indireto via NN	0,5566
Efeito indireto via MSN	0,2188
Efeito indireto via MSR	-0,1407
Efeito indireto via ENOD	-0,2266
Total	0,8762
ENOD	
Efeito direto sobre NAPA	0,4259
Efeito indireto via NN	-0,4453
Efeito indireto via MSN	-0,2210
Efeito indireto via MSR	0,1154
Efeito indireto via MSPA	-0,0942
Total	-0,4276
Coeficiente de determinação (R^2)	0,9513
Valor de k usado na análise	5,2568
Efeito da variável residual	0,0093

Para a variável explicativa MSPA o efeito direto também foi de baixa magnitude (0,1772), porém os efeitos indiretos positivos ocasionados pelas variáveis NN (0,5566) e MSN (0,2188), compensaram os efeitos indiretos negativos de MSR (-0,1401) e ENOD (-0,2266), resultando em estimativa positiva de correlação (0,8762).

O efeito direto positivo da ENOD (0,4259), apesar de apresentar média magnitude e contar com o efeito indireto positivo por via da MSR (0,1154), não compensou os efeitos indiretos negativos provocados por via do NN (-0,4453), do MSN (-0,2210) e da MSPA (-0,0942), o que resultou em estimativa negativa do valor do coeficiente de correlação sobre o NAPA (-0,4276).

Coefficientes de determinação com valores elevados indicam que a variação do caráter principal foi determinada em grande parte pelas variáveis explicativas (Freitas et al. 2016). Neste trabalho, o coeficiente de determinação da análise de trilha foi maior do que os relatados em alguns estudos (Moura et al. 2012, Ribeiro et al. 2012, Almeida et al. 2014, Santos et al. 2014).

O coeficiente de determinação da variável principal NAPA, originado pelos componentes primários, demonstrou que mais de 95% desse caráter principal foi determinado pelas contribuições das variáveis explicativas e apenas 0,93% pela variável residual. Assim, o modelo explicativo adotado expressou a relação causa e efeito entre as variáveis primárias e a acumulação de nitrogênio na parte aérea.

3.6. Conclusões

As correlações fenotípicas entre as variáveis relacionadas à FBN demonstram existir grande influência de cada uma das variáveis sobre as demais.

A análise de trilha mostrou-se adequada para explicar as relações entre os componentes primários e a acumulação de nitrogênio na parte aérea, considerando a alta estimativa do coeficiente de determinação (R^2) e o baixo efeito residual.

Os efeitos diretos e indiretos das variáveis primárias indicam que é possível selecionar plantas com maior teor de NAPA quando essas apresentam maiores valores das variáveis explicativas.

3.7. Agradecimentos

Ao Instituto Agrônomo de Pernambuco – IPA, pela contribuição e apoio à pesquisa com a doação do material genético.

À Estação Experimental de Cana-de-açúcar de Carpina – EECAC, da UFRPE, pelo apoio logístico e de infraestrutura para execução dos trabalhos de campo e laboratório.

3.8. Referências bibliográficas

Abate T, Alene AD, Shiferaw DBB, Silim S, Orr A and Asfaw S (2012) **Tropical grain legumes in Africa and South Asia: knowledge and opportunities**. International Crops Research Institute for the Semi Arid Tropics, Nairobi, 112 p.

Almeida WS, Fernandes FRB, Teófilo EM and Bertini CHCM (2014) Correlation and path analysis in components of grain yield of cowpea genotypes. **Revista Ciência Agronômica 45**: 726-736.

Andrade FN, Rocha MM, Gomes RLF, Freire Filho FR e Ramos SRR (2010) Estimativas de parâmetros genéticos em genótipos de feijão-caupi avaliados para feijão fresco. **Revista Ciência Agronômica 41**: 253-258.

Brasil (2008) Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 12, de 28 mar. 2008**. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, 31 mar. 2008. Seção 1, p. 11-14.

Campanharo M, Lira Junior MA, Nascimento CWA, Stamford NP, Freire FJ e Costa JVT (2010) Acidez do solo na fixação biológica de nitrogênio em feijoeiro comum. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias 5**: 285-290.

Chagas Junior AF, Rahmeier W, Fidelis RR, Santos GR and Chagas LFB (2010) Agronomic efficiency of Rhizobium strains inoculated in cowpea in the Cerrado, Gurupi, TO. **Revista Ciência Agronômica 41**: 709-714.

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. **Levantamento de grãos 2016/2017**. Disponível em:

http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/18_02_08_17_09_36_fevereiro_2018.pdf. Acesso em: 01 mar. 2018.

Costa, I. G. Genética de gerações segregantes de feijão-caupi quanto à fixação biológica de nitrogênio

Costa EM, Nóbrega RSA, Martins LV, Amaral FHC e Moreira FMS (2011) Nodulação e produtividade de *Vigna unguiculata* (L.) Walp. por cepas de rizóbio em Bom Jesus, PI. **Revista Ciência Agronômica 42**: 1-7.

Cruz CD, Regazzi AJ e Carneiro PCS (2012) **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. 4ª ed, Editora da UFV, Viçosa, 514 p.

Cruz CD (2013) GENES - a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. **Acta Scientiarum 35**: 271-276.

FAO (2017) **Food and Agriculture Organization of the United Nations**. Crops: cow peas, dry. Disponível em: <<http://faostat3.fao.org/browse/Q/QC/E>>. Acesso em: 25 fev. 2017.

Freire Filho FR, Rocha MM, Ribeiro VQ, Rocha MM, Damasceno-Silva KJ, Nogueira MSR e Rodrigues EV (2011) **Feijão-caupi no Brasil: produção, melhoramento genético, avanços e desafios**. Embrapa Meio-Norte: Teresina, 84 p.

Freitas, TGG, Silva PSL, Dovale JC and Silva EM (2016) Green bean yield and path analysis in cowpea landraces. **Revista Caatinga 29**: 866-877.

Friego GR, Guimarães SL, Bonfim-Silva EM and Polizel AC (2014) The inoculation of cowpea culture with rhizobial lineage in Brazilian Cerrado Region. **African Journal of Microbiology Research 8**: 3150-3156.

Gualter RMR, Leite LFC, Araújo ASF, Alcantara RMCM e Costa DB (2008) Inoculação e adubação mineral em feijão-caupi: Efeitos na nodulação, crescimento e produtividade. **Scientia Agraria 9**: 469-474.

Hoagland D and Arnon DI (1950) **The water-culture method for growing plants without soil**. California Agricultural Experiment Station. Circular 347.

Melo SR e Zilli JE (2009) Fixação biológica de nitrogênio em cultivares de feijão-caupi recomendadas para o Estado de Roraima. **Pesquisa Agropecuária Brasileira 44**: 1177-1183.

Costa, I. G. Genética de gerações segregantes de feijão-caupi quanto à fixação biológica de nitrogênio

Montgomery DC and Peck EA (1992) **Introduction to linear regression analysis**. John Wiley, New York, 544 p.

Moura JO, Rocha MM, Gomes RLF, Freire Filho FR, Silva KJD and Ribeiro VQ (2012) Path analysis of iron and zinc contents and others traits in cowpea. **Crop Breeding and Applied Biotechnology 12**: 245-252.

Nogueira AP, Sedyama T, Sousa LB, Hamawaki OT, Cruz CD, Pereira DG e Matsuo E (2012) Análise de trilha e correlações entre caracteres em soja cultivada em duas épocas de semeadura. **Bioscience Journal 28**: 877-888.

Ribeiro HLC, Santos CAF e Costa DCC (2012) Correlações fenotípicas e análise de trilha para caracteres da arquitetura da planta e produção de grãos em três gerações de feijão caupi. **Horticultura Brasileira 30**: (Suplemento - CD Rom).

Rocha MM, Carvalho KJM, Freire Filho FR, Lopes ACA, Gomes RLF e Sousa IS (2009) Controle genético do comprimento do pedúnculo em feijão-caupi. **Pesquisa Agropecuária Brasileira 44**: 270-275.

Santos A, Braga DC, Correa AM, Melo CLP, Silva JAS, Lima ARS e Rodrigues EV (2015) Escolha de genitores de feijão-comum baseado na divergência genética. **Revista Agrarian 8**: 235-245

Santos A, Cecon G, Davide LMC, Correa AM and Alves VB (2014) Correlations and path analysis of yield components in cowpea. **Crop Breeding and Applied Biotechnology 14**: 82-87.

Silva FC (2009) **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**. 2.ed. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica; Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 627p.

Silva RTL, Andrade DP, Melo EC, Palheta ECV e Gomes MAF (2011) Inoculação e adubação mineral na cultura do feijão-caupi em latossolos da Amazônia Oriental. **Revista Caatinga 24**: 152-156.

Costa, I. G. Genética de gerações segregantes de feijão-caupi quanto à fixação biológica de nitrogênio

Wright S. (1921) Correlation and causation. **Journal of Agricultural Research** 20: 557-585.

Zilli JE, Marson LC, Marson BF, Rumjanek NG e Xavier GR (2009) Contribuição de estirpes de rizóbio para o desenvolvimento e produtividade de grãos de feijão-caupi em Roraima. **Acta Amazônica** 39: 749-758.

ANEXOS

GENÉTICA DE POPULAÇÕES SEGREGANTES DE FEIJÃO-CAUPI QUANTO À FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO

NORMAS DE REDAÇÃO DE DISSERTAÇÃO OU TESE DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA – MELHORAMENTO GENÉTICO DE PLANTAS

1. Normas Gerais

1.1. Dissertação constitui o produto final de pesquisas desenvolvidas em cursos de Mestrado e a Tese constitui o produto final de pesquisas desenvolvidas em cursos de Doutorado. Exigem investigações próprias à área de especialização e métodos específicos.

1.2. A Dissertação ou Tese é de responsabilidade do discente, da Comissão Orientadora e da Banca Examinadora.

2. Estrutura

2.1. A Dissertação ou Tese deverá ser composta de: (i) capa, (ii) páginas pré-textuais, (iii) corpo propriamente dito e, (iv) anexo (páginas pós-textuais).

2.2. A capa deverá conter a autoria, título, local e ano da aprovação. As capas encadernadas em mais de um volume deverão conter as mesmas informações acrescidas da identificação do respectivo volume. Dois (2) exemplares devem ser de capas duras de cor preta e letras amarelas.

2.3. As páginas pré-textuais serão compostas:

2.3.1. Primeira folha interna (página de rosto), contendo; (i) autoria, (ii) título; (iii) nota explicativa de que se trata de um trabalho de Dissertação ou Tese, mencionando o Programa de Pós-Graduação, a Universidade e o grau pretendido (Mestrado ou Doutorado); (iv) comitê de orientação e (v) local e ano de aprovação. Conterá, no verso desta folha, a ficha catalográfica.

2.3.2. Segunda folha interna deve conter, o título, o nome do pós-graduando (a), a data de aprovação, os nomes e as assinaturas do orientador e dos participantes da Banca Examinadora, local e data.

Costa, I. G. Genética de gerações segregantes de feijão-caupi quanto à fixação biológica de nitrogênio

2.3.3. Opcionalmente, poderão ser incluídas páginas adicionais contendo: (i) agradecimento (ii) oferecimento, (iii) dedicatória e (iv) biografia do autor, obrigatoriamente, deve conter (v) lista de símbolos, figuras, tabelas e sumário.

2.3.4. Folha (s) em que conste (m) o resumo em português, palavras-chave, o abstract em inglês e key words. O resumo com no máximo 800 palavras deve destacar: o local da pesquisa, delineamento estatístico, caracterização do problema, focalizar o(s) objetivo(s), síntese da metodologia, resultados obtidos e conclusões.

2.4. O corpo da Dissertação ou Tese conterá todo o trabalho impresso, avaliado e aprovado pela Banca Examinadora. O corpo poderá ser organizado na forma de capítulos.

2.5. O corpo em capítulos será composto das seções: Capítulo I: Introdução e Referencial Teórico; Capítulos (I ou mais a depender do número de artigos científicos); e Considerações Finais (opcional). As referências bibliográficas e citações seguirão as normas da Crop Breeding and Applied Biotechnology. As referências bibliográficas deverão aparecer ao final de cada capítulo.

2.6. O anexo (páginas pós-textuais) conterá material pertinente e suplementar.

2.7. Inserir cabeçalho a partir do Capítulo I até a página inicial da folha anexo(s).

3. Editoração

3.1. Composição tipográfica. As dissertações ou teses deverão ser impressas em forma permanente e legível, com caracteres de alta definição e de cor preta no tipo Arial tamanho 12, com espaçamento 1,5.

3.2. Notação científica e medidas. A nomenclatura científica deverá ser diferenciada contextualmente, de acordo com as normas internacionais. As unidades métricas deverão seguir o padrão do Sistema Internacional de Unidades.

3.3. Papel. Utilizar papel A-4 (210 x 297 mm) branco, e suficientemente opaco para leitura normal.

3.4. Margens. A margem esquerda deve ser de 3 cm e as outras margens de 2 cm.

3.5. Paginação. Todas as páginas textuais e pós-textuais deverão ser numeradas em seqüência contínua, i.e., desde a página do Capítulo I (texto corrido), até a última página, em algarismos arábicos. A seqüência deverá incluir tudo que estiver como mapas, diagramas, páginas em branco e outros. As páginas pré-textuais deverão ser numeradas, sequencialmente, como algarismos romanos minúsculos.

3.6. Ilustrações. Fotografias e outras ilustrações deverão ser montadas de forma definitiva e incluídas no corpo da Dissertação ou Tese. É admitido o uso de cores nas figuras e ilustrações. Em nenhuma circunstância dever-se-á empregar fita adesiva ou material similar para afixação de ilustrações no corpo da Dissertação ou Tese. Folhas de tamanho superior a A4 serão aceitáveis, desde que dobradas, de forma a resultar em dimensões inferiores ao tamanho do papel adotado.

Recife, 22 de maio de 2014.